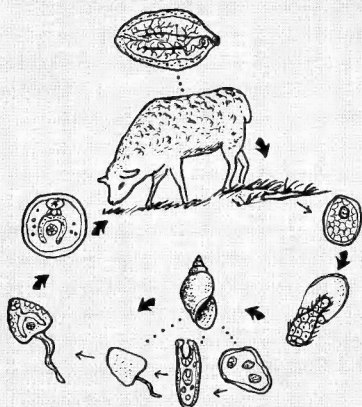


Pr 3956

# HALIOTIS

**1973 - VOL. 3**



**COLLOQUE DE ROUEN - sept. 1972**

**MALACOLOGIE CONTINENTALE APPLIQUEE**

**Publié par la Société Française de Malacologie**



## SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MALACOLOGIE

fondée en 1969

Siège social : 55, rue de Buffon, 75 - PARIS Ve - Tél. 331-38-95

### ADMINISTRATION 1972-1973

Président : P. LUBET  
Vice-Président : G. TRUC  
Secrétaire-Général : J.C. FISCHER  
Secrétaire-Adjoint : H. CHEVALLIER  
Trésorier : P. LE GALL

Autres Membres du Conseil : J.P. HEROLD  
A. LUCAS  
B. SALVAT  
W. STREIFF  
J. TARDY  
Mme G. TERMIER  
J. VOVELLE

Membres étrangers invités : H. ANT (Allemagne Fédérale)  
J. B. BURCH (U.S.A.)  
A. GIROD (Italie)  
J. JOOSSE (Pays-Bas)  
J.J. VAN MOL (Belgique)

La Société Française de Malacologie a été fondée le 29 janvier 1969. Elle a pour but d'encourager et de développer toute étude concernant les Mollusques actuels et fossiles, de faciliter les relations entre les malacologistes et de les documenter sur les recherches en cours dans les différents laboratoires de France ou d'autres pays. L'association est dirigée par un Conseil d'Administration de douze membres élus pour trois années par l'Assemblée Générale ordinaire.

Les demandes d'adhésion sont ratifiées par le Conseil d'Administration ; aucune condition particulière n'est exigée pour être membres, personnes physiques ou personnes morales (Laboratoires, Associations, Sociétés). Le montant annuel de la cotisation est de 35 F. pour les personnes physiques et de 50 F. pour les personnes morales. Il est payable par mandat ou chèque à l'ordre de la « Société Française de Malacologie, 55, rue de Buffon, 75 - PARIS Ve, C.C.P. 30 387 - 66 LA SOURCE ».

Chaque membre de la Société reçoit des circulaires d'informations ronéotées ainsi que la revue « HALIOTIS » éditée par la Société. Parmi les circulaires, l'information bibliographique est diffusée aux membres par une liste de tous les travaux malacologiques reçus au Siège Social au cours de chaque trimestre (quatre circulaires bibliographiques dans l'année).

Toutes demandes, d'adhésion ou de renseignements, doivent être adressées au Secrétariat de la Société.

Directeur de la Publication : Le Président de la S.F.M.  
Comité de rédaction : Le Conseil de la S.F.M. et les Membres étrangers invités au Conseil  
Secrétaire de rédaction et Gérant : P. LUBET

# HALIOTIS

---

Premier colloque de Malacologie appliquée

*organisé par la Société Française de malacologie  
et le laboratoire de zoologie agricole de l'I.N.R.A.*

ROUEN 28-30 Septembre 1972

Volume 3

N<sup>os</sup> 1 - 2



## SOMMAIRE

Déroulement du Colloque .....	5
Liste des participants au Colloque .....	6

### COMMUNICATIONS

#### a) Aspects économiques sur les végétaux

- Les Mollusques continentaux de France d'intérêt économique <i>H. CHEVALLIER</i> .....	9
- Dégâts causés par les Limaces en Grande-Bretagne <i>A. SOUTH</i> .....	19
- Les dégâts des Limacides et des Arionidés et leur importance économique en République Fédérale d'Allemagne <i>D. GODAN</i> .....	27
- Observations sur <i>Euparypha (Theba) pisana</i> Müller en luzernières à graines <i>E. CARASCHI et V. LECOMTE</i> .....	33

#### b) Aspects médical et économique sur le bétail et l'homme

- Importance de la Fasciolose du bétail en France <i>G. JOLIVET</i> .....	39
- Etude de l'effet de quelques facteurs climatiques sur l'évolution épizootique de <b>Fasciola hepatica</b> . Leur utilisation pour la mise au point d'une méthode de prévision de l'incidence de la Fasciolose en France <i>F. LEIMBACHER</i> .....	43
- La Fasciolose ovine et bovine en Grande-Bretagne et en Irlande <i>M. PITOIS</i> .....	57
- Rôle des Mollusques dans la transmission des helminthiases en domaine continental <i>C. COMBES et B. CENS</i> .....	59

#### c) La Bilharziose en Guadeloupe

- Mollusques vecteurs de la Bilharziose en Guadeloupe. Inventaire malacologique des espèces dulçaquicoles. Etude préliminaire <i>J.J. POINTER</i> .....	65
- Mollusques vecteurs de la Bilharziose en Guadeloupe. Approche physiologique des biotopes. Etude préliminaire <i>R. HOUIN, J. GOLVAN, C. COMBES, M. DENIOU et P. PERIAC</i> .....	73

#### d) Echantillonnage des Mollusques nuisibles

- Etude des variations saisonnières des populations de *Lymnaea natalensis* dans le moyen ouest de Madagascar  
*A. BOUCHET, P. DAYNES et Ch. RAMALANJAONA* ..... 81
- Estimation des populations de Limaces  
*A. SOUTH* ..... 89
- Dénombrement des Limnées  
*R. MOENS* ..... 97

#### e) Méthodes de traitement

- Mises en évidence de l'action d'un mollucide dans la prévention de la Fasciolose ovine  
*M. PITOIS* ..... 103
- La lutte anti-limaces : historique et évolution  
*J.C. WEISS* ..... 107
- Méthodologie expérimentale du contrôle d'efficacité des molluscicides à homologuer  
*G. RICOU* ..... 113
- L'influence des herbicides sur les Limaces  
*D. GODAN* ..... 125

#### f) Biologie appliquée et élevage en laboratoire

- Etude de l'ultrastructure de l'épithélium dorsal et pédieux des Limaces *Arion hortensis* Férussac et *Agriolimax recticulatus* (Müller)  
*P.J. NEWELL* ..... 131
- Intérêt des espèces *Cepaea nemoralis* L. et *Cepaea hortensis* Müller pour l'étude des facteurs du polymorphisme  
*M.A. GUERRUCCI* ..... 143
- Culture *in vitro* des cellules de gastéropodes  
*J.M. QUIOT, C. VAGO et J. LUCIANI* ..... 149
- Réactivité des anti-A d'*Helix pomatia* et d'*Helix aspersa* vis-à-vis des phénotypes érythrocytaires  
*A. GERBAL, G. LIBERGE, C. MASLET et C. SALMON* ..... 155
- Etude sur la dispersion et les conditions d'élevage de *Lymnaea truncatula*  
*G. RICOU* ..... 167

#### f) Marché et élevage commercial

- Le marché des Mollusques en France  
*V. LECOMTE* ..... 173
- Répartition en France et importance économique de l'Escargot de Bourgogne, *Helix pomatia* Linné  
*H. CHEVALLIER* ..... 177
- Technique de production des Métacercaires  
*S. SEVO* ..... 185

- La réglementation française relative aux conserves d'escargots. Qualité de la matière première utilisée

B. VUATRIN \_\_\_\_\_ 191

# COMMISSION FAUNISTIQUE CONTINENTALE DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MALACOLOGIE

- Cartographie des Mollusques continentaux actuels de la France  
H. CHEVALLIER, V. LECOMTE, A. LUCAS, G. REAL \_\_\_\_\_ 195
- Répartition en France de *Potamopyrgus jenkinsi*  
G. REAL \_\_\_\_\_ 199
- Répartition en France de *Deroceras caruanae* (Pollonera 1891)  
H. CHEVALLIER \_\_\_\_\_ 205

## COLLOQUE DE MALACOLOGIE CONTINENTALE APPLIQUEE

ROUEN, 28, 29, 30 septembre 1972

Organisé par le Laboratoire de Zoologie Agricole (I.N.R.A.) de ROUEN  
(Institut Scientifique de Haute-Normandie), sous les auspices de la Société Française de Malacologie

### DEROULEMENT DU COLLOQUE

#### Judi 28 septembre :

##### MATIN :

Ouverture du Colloque par Monsieur le Recteur de l'Académie de Rouen.

Aspect économique sur les végétaux - Président de Séance : VAN DEN BRUEL.

Communications de : CHEVALLIER, MALLET et BOUGARAN, SOUTH, GODAN, CAIRASCHI et  
LECOMTE.

##### APRES-MIDI :

Aspect médical et économique sur le Bétail et sur l'Homme. La Bilharziose en Guadeloupe.

Président de séance : JOLIVET

Communications de : JOLIVET, LEIMBACHER, VAN DEN BRUEL, PITOIS, COMBES et GENS, CORNELY.  
17 h 30 : Cocktail.

#### Vendredi 29 septembre :

##### MATIN :

La Bilharziose en Guadeloupe (suite). Echantillonnage des Mollusques nuisibles sur le terrain.

Président de séance : PITOIS.

Communications de : POINTIER (présentée par HOUIN), HOUIN et al., BOUCHET et al. (présentée par  
RICOUP), SOUTH, MOENS (présentée par VAN DEN BRUEL).

##### APRES-MIDI :

Méthodes de traitement.

Président de séance : MALLET.

Communications de : PITOIS, WEISS, RICOUP, GODAN.

17 h : Assemblée générale de la Société Française de Malacologie.

#### Samedi 30 septembre :

##### MATIN :

Biologie appliquée et élevage en laboratoire.

Président de séance : STREIFF.

Communications de : NEWEKK, GUERRUCCI, GERBAL, RICOUP, SEVO.

Communication non présentée : QUIOT et VAGO.

##### APRES-MIDI :

Marché et élevage commercial

Président de séance : CHEVALLIER.

Communications de : LECOMTE, CHEVALLIER, LECOMTE.

#### Hors-Colloque :

#### Mercredi 27 septembre :

##### APRES-MIDI :

Réunion de la Commission Faunistique Continentale de la Société Française de Malacologie.

## LISTE DES PARTICIPANTS AU COLLOQUE

- BERTIN (M. et Mme S.). - Héliculteurs - 4, rue des Fossés - 89250 SEIGNELAY.
- BONNEAU P. - Contrôleur - Service Protection des Végétaux - 10, Boulevard Emile Duchemin - 76000 ROUEN.
- BOST A. - Directeur Service Recherches G.A., Société AMORA - 48, Quai Nicolas Rolin - 21017 DIJON CEDEX.
- CAIRASCHI E. - Directeur (I.N.R.A.) - Laboratoire de Parasitologie, Ecole Nationale Vétérinaire - 94700 MAISONS ALFORT.
- CENS B. (Mme) - Ingénieur (I.N.R.A.) - Laboratoire de Parasitologie - Ecole Nationale Vétérinaire - 94700 MAISONS ALFORT.
- CHEVALLIER H. - Assistant - Muséum National Histoire Naturelle, Département de Malacologie - 55, rue Buffon - 75005 PARIS.
- COMBES C. - Maître de Conférence - Département de Biologie Animale, Centre Universitaire - Avenue de Villeneuve - 66000 PERPIGNAN.
- CORNELY G. - Institut Pasteur - 97110 POINTE A PITRE (Guadeloupe)
- DUCHEMIN P. - 4, rue du Gast - 78100 SAINT-GERMAIN-EN-LAYE.
- FOURNEYRON J. - Délégué Agronomique Régional - Société Nationale des Scories Thomas - 13, rue de Fontenelle - 76000 ROUEN.
- GABRION C. - Assistant - Laboratoire de Parasitologie comparée, Faculté des Sciences - 34000 MONTPELLIER.
- GERBAL A. - Docteur - Directeur Centre Départemental de Transfusion sanguine - 53, Boulevard Diderot - 75571 PARIS CEDEX 12.
- GDULA. - Héliculteur - 4, rue des Fossés - 89250 SEIGNELAY.
- GODAN D. (Mme) - Biolog. Bundesanstalt, Konigin-Luisenstr. 19 1 BERLIN 33 (Allemagne Fédérale).
- GRANDIN de l'EPREVIER L. - Nérigny - 18390 SAINT-GERMAIN-du-PUYS.
- GRAS P. - Directeur du Centre de Recherches de l'Institut Scientifique et Technique des Pêches Maritimes - 37, rue du Général Leclerc - 17390 LA TREMBLADE.
- GUERRUCCI M.A. (Mme) - Assistante - Laboratoire de Zoologie, Ecole Nationale Supérieure - 46, rue d'Ulm - 75005 PARIS.
- HOPPELER W. - Ingénieur C.E.T.A. - C.R.C.E.T.A., Ile de France - 4, rue Alex Bontemps - 78000 VERSAILLES.
- HOUIN R. - Docteur - Faculté Médecine de Créteil, Parasitologie - 6, rue du Général Sarraill - 94000 CRETEIL.
- JOLIVET G. - Professeur - Ecole Nationale Vétérinaire, Laboratoire de Parasitologie - 7, avenue du Général de Gaulle - 94700 MAISONS ALFORT.
- JOURDANE J. - Attaché de Recherches C.N.R.S. - Département Biologie Animale, Centre Universitaire, Avenue de Villeneuve - 66000 PERPIGNAN.
- DE LARAMBERGUE - Professeur de Zoologie - Centre Universitaire - 86000 POITIERS.
- LALANNE L. - Technicien-Coop. Quercy, Regaind - 46000 CAHORS.
- LECOMTE V. - I.N.R.A. - Laboratoire de Zoologie - 16, rue Dufay - 76100 ROUEN.
- LE GALL P. - Assistant - Laboratoire de Biologie Marine de l'Université de CAEN - 14530 LUC-SUR-MER.
- LEIMBACHER F. - Institut Technique Ovins et Caprins, Laboratoire départemental de la Haute-Vienne - 87170 ISLE.



LEVEQUE C. - Chargé de Recherches O.R.S.T.O.M. - Hydrobiologie, Ecole Normale Supérieure - 46, rue d'Ulm - 75005 PARIS.

LIMON P. - Société Nationale des Scories Thomas - 25, rue Jules Oyer - 14000 CAEN.

LUBET P. - Professeur - Laboratoire de Zoologie, Faculté des Sciences - 14000 CAEN.

MALLET C. - Directeur Scientifique - Pfizer France Agricole, La Galboisière - 37700 SAINT-PIERRE-DES-CORPS.

NEWELL P. - Professeur - Zoology Department, Westfilds College (University of London) Kidderpore Avenue - LONDON NW 3.

PINEL B. - (Mlle) - Etudiante, rue du Champ du Lion - 61170 LE MELE-SUR-SARTHE.

PITOIS M. - Docteur-Vétérinaire - Agrishell, Recherche Santé Animale - 243 bis, Grand' rue de la Guillotière - 69007 LYON.

POURCHARESSE P. - Directeur Technique - Bayer Phytochim - 53, rue du Général Leclerc - 92133 ISSY-LES-MOULINEAUX.

DE RASILLY H. - Directeur Général Adjoint - Société Commerciale d'Applications chimiques - 105, rue Charles Michel - 93200 SAINT-DENIS.

REAL G. - Technicien - Institut de Biologie Marine - 2, rue du Professeur Jolyet - 33120 ARCACHON.

RICOU G. (Mme) - Maître de Recherches - Directeur du Laboratoire de Zoologie - 16, rue Dufay - 76100 ROUEN.

SEVO S. (Mme) - Faculté des Sciences Agronomiques, Laboratoire de Zoologie Appliquée - 5800 GEMBLOUX (Belgique).

SOUBELET - Docteur Vétérinaire - Société Sanders - Quai de l'Industrie - 91260 JUVISY-SUR-ORGE.

SOUTH A. - Professeur - Department of Biological sciences, City of London Polytechnic - 31, Jewry Street - LONDON EC 3 N (2 EY England).

STREIFF W. - Professeur - Laboratoire d'Embryologie et Endocrinologie expérimentale, U.E.R. Sciences de la Vie, Université de Caen - 14000 CAEN.

TRIBOULEY J. - Professeur - Laboratoire d'Immunologie - Faculté de Médecine, Université de Bordeaux - 11, Place de la Victoire - 33000 BORDEAUX.

VACHEL J.P. - Ingénieur - Service Technique Sanders - Quai de l'Industrie - 91260 JUVISY-SUR-ORGE.

VAN DEN BRUEL W. - Professeur - Faculté des Sciences Agronomiques, Laboratoire de Zoologie Appliquée - 5800 GEMBLOUX (Belgique).

WATTIEZ S. - Agent Régional - Institut Technique de la Betterave - Cédex 3030 - 76000 ROUEN - St-Clément.

WEISS J.C. - Ingénieur Agronome - Cher de la section produits agrochimiques Lonza, Fimme Lonza, Münchensteinstrasse - 33 BALE (Suisse).

VINITZKY M. - Héliculteur - 4, rue du Gast - 78100 SAINT-GERMAIN-EN-LAYE.



# LES MOLLUSQUES CONTINENTAUX DE FRANCE D'INTERET ECONOMIQUE

par H. CHEVALLIER

## RESUME

Les Mollusques continentaux de France d'intérêt économique sont :

a) Des Mollusques déprédateurs : les cultures sont surtout attaquées par de petits Limaciens (principalement *Deroceras reticulatum*) ; une petite Moule (*Dreissena polymorpha*) obstrue les conduites d'eau ;

b) des Mollusques vecteurs de Vers pathogènes au bétail et à l'Homme (Douves...),

c) des Mollusques comestibles (l'Escargot de Bourgogne, l'Escargot "Petit-Gris"...),

d) des Mollusques utilisés en biologie appliquée : médecine (groupages sanguins), recherche pharmacologique, radioécologie.

## SUMMARY

Continental Molluscs of France of economical interest are :

a) depredatory Molluscs i. d. Molluscs harmful to cultivation (small Slugs, principally *Deroceras reticulatum* and Snails) and one small fresh-water Mussel (*Dreissena polymorpha*) which causes damage into water pipelines ;

b) vector Molluscs of pathogenic Worms for domestic animals and Man (Flukes...),

c) edible Snails - "l'Escargot de Bourgogne" (the Roman Snail), "l'Escargot Petit-Gris" (the Grey Snail) ;

d) Molluscs used in applied biology : medicine (blood groupings), pharmacology, radioecology.

\* \* \* \*

Les Mollusques terrestres et les Mollusques fluviatiles vivant en France et présentant un impact économique peuvent être classés en quatre catégories : Mollusques déprédateurs, Mollusques vecteurs, Mollusques comestibles et Mollusques utilisés en Biologie appliquée.

## 1) MOLLUSQUES DEPREDATEURS

La principale déprédation est l'attaque des cultures par divers Mollusques terrestres. L'espèce la plus nuisible est *Deroceras reticulatum* (= *Agriolimax reticulatus*, - *Agr. agrestis* auct.), la "Petite Limace grise" ("Grey field Slug des auteurs anglais). Elle se trouve répandue dans toute la France, dans la plupart des milieux naturels et dans la quasi-totalité des cultures (fig. 1).

Le tableau A indique les principales espèces nuisibles aux cultures en France. Outre *D. reticulatum*, on peut trouver en plein champs d'autres Limaciens : *Deroceras laeve* (fig. 2), *Arion hortensis* (fig. 5) et *Arion circumscriptus* (fig. 6). *Milax sowerbyi* (fig. 3) peut aussi attaquer certaines cultures de moyenne étendue ainsi que la "Limace rouge" *Arion lusitanicus* (Chevallier 1972, p. 16). Un dernier Limacien causant de graves dégâts en Europe moyenne et en Grande-Bretagne risque d'être introduit en France, c'est *Milax budapestensis* (fig. 4). Les Escargots, eux, causent essentiellement des dégâts aux cultures potagères et florales. Les espèces les plus fréquentes en milieu horticole sont "l'Escargot Petit Gris" *Helix aspersa* (fig. 14) ainsi que *Hygromia limbata* et *Euparypha pisana* (fig. 19), cette dernière espèce pouvant envahir parfois des cultures en grande surface.

La prolifération en certains endroits de ces Mollusques dévastateurs est très probablement due à la raréfaction de la faune insectivore et molluscophage (merles, grives et autres oiseaux surtout carnivores, hérissons, musaraignes, taupes, batraciens, reptiles...). Outre l'emploi raisonnable des pesticides, il serait sans doute adéquat de déterminer la quantité "utile" de la faune sauvage et de réglementer la chasse afin que cette faune demeure dans la norme d'utilité.

Tableau A - Principaux Mollusques nuisibles aux cultures en France  
(Pour plus de précisions sur Limaciens, voir CHEVALLIER, 1970)

Espèce	Répartition en France	Cultures attaquées
<i>Deroceras reticulatum</i> ( - <i>Agriolimax reticulatus</i> )	Toute la France	Toutes cultures
<i>Deroceras laeve</i> ( - <i>Agriolimax laevis</i> )	Presque toute la France (zones humides)	Cultures sur terrain humide
<i>Arion hortensis</i>	Presque toute la France	Presque toutes cultures, plantes à rhizômes
<i>Arion circumscriptus</i> ( <i>A. fasciatus</i> aut. angl.)	Nord, Est, Bassin Parisien, localisé dans le N O.	Champs divers (céréales, pommes de terre)
<i>Arion rufus</i>	Moitie Nord	Cultures horticoles
<i>Arion lusitanicus</i>	Moitie Sud, introduit en milieux suburbains	id parfois petits champs
<i>Milax sowerbyi</i>	Surtout régions maritimes	id
<i>Milax budapestensis</i>	Présent en France ?	Champs
<i>Helix aspersa</i>	Régions maritimes, introduit en milieux suburbains	Cultures horticoles
<i>Euparypha pisana</i>	Régions méditerranéennes et Vallée de la Garonne	id. Bordures de champs (luzerne, colza...)
<i>Hygromia limbata</i>	Régions océaniques	Cultures horticoles

Dans le milieu aquatique enfin, la petite moule d'eau douce *Dreissena* ( - *Dreissensia*) polymorphe occasionne des avaries dans diverses conduites d'eau.

## II) MOLLUSQUES VECTEURS

Le Tableau B fournit la liste des Vers parasites pathogènes transmis par des Mollusques terrestres et fluviatiles aux animaux domestiques et à l'Homme en Europe. La maladie qui a la plus grande incidence économique sur le bétail est la Fasciolose, due à la "Grande Douve" et transmise par la petite Limnée *Lymnaea truncatula* (fig. 9). Les maladies atteignant l'Homme sont rares ou bien bénignes (dermatites) ou bien encore insuffisamment connues. Les seuls cas de Bilharziose ont été signalés au Portugal, mais une surveillance doit être effectuée dans les zones méditerranéennes où existe le Bullin *Bulinus truncatus* (en Corse en particulier où vivent des travailleurs nord-africains pouvant être atteints de cette maladie (fig. 10).

TABLEAU B - Vers parasites pathogènes aux animaux domestiques et à l'Homme transmis par des Mollusques en Europe (d'après Pampiglione et Toffoletto (1971 - Hiter, 1967 et Cens-Tachoiros)

Vers parasites	Mollusques vecteurs	Hôtes	Organes infestés Maladies
<i>Davainea proglottina</i> (Cestode)	Arionidae, Limacidae, Milacidae Occas. : Helicidae, Succineidae	Oiseaux galliformes	Appareil digestif
<i>Raillietina bonini</i> (Cestode)	Arionidae, Deroceras reticulatum, Lehmannia marginata, Cepaea hortensis	Pigeons	Intestin grêle
<i>Mullerius capillaris</i> (Nématode)	Deroceras reticulatum, D. laeve, Arion subfuscus, Milax sowerbyi, Helicella obvia (en Bulgarie), Cochlicella acuta, Euparypha pisana	Petits ruminants	Protostrongylose broncho-pulmonaire («Pneumonie vermineuse»)
<i>Crenosoma vulpis</i> (Nématode)	Arion, Deroceras Helix, Cepaea, Arianta, Eulota, Succinea, Zonitoides	Chien Chat Renard	Appareil respiratoire (trachéo bronchite)
<i>Angiostrongylus vasorum</i> (Nématode)	Arion rufus, Arion lusitanicus	Chien Renard	Cœur droit et artère pulm. (Angiostrongylose)
<i>Aelurostrongylus abstrusus</i> (Nématode)	Deroceras, Limax flavus, Arion circumscribitus, Helix	Chat	Vaisseaux pulm (Aelurostrongylose)
<i>Dicrocoelium lanceolatum</i> - dentriticum «la Petite Douve» (Trématode)	Helicella unifasciata = candidula, Helicella itala - encetorum, Arion subfuscus, Limax tenellus Deroceras reticulatum, Cochlicella acuta, Cochlicopa lubrica, Euomphalia strigella, Abida frumentum, Zebrina detrita.	Ovins, Bovins Occas. : Porc Caprins Equidés Chat, Chien, Lapin Homme	Canaux biliaires (Dicrocoeliose hépati- que)
<i>Fasciola hepatica</i> «la Grande Douve» (Trématode)	Lymnaea truncatula Occas. : Lymnaea peregra, L. ovata, L. palustris	Ovins Bovins Occas. : Lapin Homme	Canaux biliaires (Fasciolose - Distomatose)
«Cercaria ocellata» (= ? Trichobilhazia ocellata - ? Bilharziella polonica) (Trématode)	Lymnaea palustris, L. stagnalis, L. peregra, Planorbis cornutus	Homme	«Dermatite des nageurs»
<i>Schistosoma bovis</i> (Trématode)	Bulinus truncatus - contortus (en Sardaigne et Corse) (ce mollusque peut transmettre aussi à l'Homme Schistosoma haematobium, mais pas de transmission connue en Europe)	Bovins Ovins	Vaisseaux sanguins (schistosomiose)
		Homme	Dermatite
<i>Schistosoma haematobium</i> (Trématode)	Planorbis dufouri = metidjensis (au Portugal)	Homme	Bilharziose vésicale
<i>Opisthorchis felinus</i> (Trématode)	Bythinia leachi	Chat Chien	Système hépato-biliaire

### III) MOLLUSQUES COMESTIBLES

Les deux espèces de France donnant lieu à un important commerce sont l'Escargot de Bourgogne, *Helix pomatia*, (fig. 11) et l'Escargot "Petit-gris", *Helix aspersa* (fig. 14). La conserverie française de l'Escargot traite aussi d'autres espèces du genre *Helix* mais qui, ne vivant pas en France, sont importées. Il s'agit principalement de l'Escargot "turc", *Helix lucorum* (fig. 12 et 13). Cette espèce pourrait se trouver introduite accidentellement en France. En 1883, elle fut acclimatée dans la banlieue lyonnaise et de Larambergue (comm. pers.) y constata toujours sa présence en 1942. Des espèces de petite taille sont localement consommées en France, mais sans donner lieu à un commerce notable.

Le tableau C donne la liste de ces espèces et leur répartition en France (cf. fig. 15 à 21).

TABLEAU C - Principaux Mollusques terrestres de France comestibles (d'après Cadart, 1955)

Espèce	Répartition en France	Commerce
<i>Helix pomatia</i>	Moitié Est	Important
<i>Helix lucorum</i>	Introductions récentes ?	d° (importation)
<i>Helix aspersa</i>	Régions méditerranéennes et océaniques, introduit en milieux urbains	Important
<i>Cepaea nemoralis</i>	Toute la France	Pratiquement nul
<i>Cepaea hortensis</i>	Toute la France, sauf bordure méditerranéenne	d°
<i>Eobania vermiculata</i>	Régions méditerranéennes	Petite vente en Provence
<i>Helix melanostoma</i>	d°	Nul
<i>Helix aperta</i>	d°	Pratiquement nul
<i>Helicella cespitum</i>	Régions méditerranéennes et région de Toulouse	d°
<i>Euparypha pisana</i>	Régions méditerranéennes, Vallée de la Garonne, ailleurs, sur les dunes océaniques	Petite vente en Provence

Jusqu'à présent, tous ces Mollusques sont récoltés dans les milieux naturels ou dans des zones cultivées. Il serait avantageux de pouvoir en faire un élevage productif ce qui, d'une part approvisionnerait d'une façon satisfaisante le marché et, d'autre part éviterait les risques de contamination de ces Mollusques par les pesticides, les engrais et les Vers pathogènes.

### IV - MOLLUSQUES UTILISES EN BIOLOGIE APPLIQUEE

Il est difficile dans ce domaine de bien délimiter la recherche fondamentale de la recherche appliquée. Les Mollusques continentaux ont donné lieu à divers travaux de physiologie et de biochimie, recherches qui pourraient connaître des applications, principalement en médecine et en pharmacologie. Actuellement, on utilise les matières albuminoïdes (œufs, glande à albumen ou bien broyat de l'animal entier) de certaines espèces en immunohématologie (Prokop. et Cell, 1968). Les espèces de France offrant des réactions antigéniques positives sont : *Helix pomatia*, *H. aspersa*, *Cepaea nemoralis* et *Eulota* (= *Bradybaena*) *fruticum* (1).

(1) Cet article étant sous presse, un travail récent m'a été communiqué par le Dr R. KILIAS de Berlin : R. KILIAS, S. SCHNITZLER, H. KOTHBAVER, D. STÖBER et O. PROKOP, 1972 - Weitere Hämogglutinin-Untersuchungen bei Landlungenschnecken (Hämogglutinin-Tests an vier weiteren Arten, Biotoper - gleiche mit schon untersuchten Arten und Tests an Organen von *Helix pomatia linnaeus*), Z. Immun-Forsch., Bd. 144, p. 157-166.

Cette étude indique que *Eobania vermiculata* (fig. 21) possède des hémogglutinines anti-A (anti-A cv et anti-Aev); *Arianta arbustorum*, espèce présente en France, est également utilisable dans ce domaine de recherches.

Les Escargots peuvent être aussi employés pour le typage de souches bactériennes. Les diastases stomacales des *Helix* seraient utilisables en médecine pour soigner des carences enzymatiques. On s'est aussi longtemps servi empiriquement d'*Helix* ainsi que de "Limaces rouges" (*Arion rufus* - *A. lusitanicus*) pour préparer des décoctions et des sirops destinés à soigner des affections respiratoires. Il pourrait s'agir d'une propriété antibiotique contenue peut-être dans le mucus de ces Mollusques. Des expériences sont également en cours pour essayer de déterminer l'activité antitoxine de Limaciens (*Arion*, *Limax*) vis-à-vis des toxines de champignons vénéneux (toxine phalloïde en particulier).

En radioécologie, on a constaté que des Mollusques continentaux pouvaient concentrer des éléments radioactifs. Ces Mollusques peuvent donc servir d'indicateurs de radioactivité. *Arion rufus* concentre principalement le Manganèse 54 provenant des retombées nucléaires ou "fall-out" (Cavallero et Ravers, 1965). Les Mollusques fluviatiles renferment des radioéléments dus à des rejets radioactifs en rivière. Ainsi le Bivalve *Unio requieni* ( - *U. pictorum*) et le Gastéropode *Physa acuta* peuvent concentrer le Césium 137 (Bovard, Poulquier et Grauby, 1969 a, 1969 b). D'autres Bivalves peuvent être utilisés en radioécologie : *Margaritana margaritifera* (Foulquier, Bovard et Grauby, 1967), toujours avec Césium 237, et *Unio mancus* avec le Strontium 85 et le Césium 134 (Ravera et Oregioni, 1971).

\* \* \*

## BIBLIOGRAPHIE

- BOVARD P., FOULQUIER L. et GRAUBY A., 1969 a. - Etude de la cinétique et de la répartition du radiocésium chez un Bivalve d'eau douce (*Unio requieni* Michaud). *Malacologia* 9 (1), p. 65-72.
- BOVARD P., FOULQUIER L. et GRAUBY A., 1969 b. - Influence de la salinité de l'eau sur la capacité de fixation du césium - 137 par *Physa acuta* (Drap.). *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, Stuttgart, 17, p. 907-925.
- CADART J., 1955. - Les Escargots (*Helix Pomatia* L. et *Helix Aspersa* M.). Biologie, Elevage, Parcage, Histoire, Gastronomie, Commerce. *Lechevalier édit.*, Paris, 420 p.
- CAVALLORO R. et RAVERA O., 1965. - *Arion rufus* L. (Gasteropoda, Pulmonata): Indicatore possibile dell'ambiente terrestre per il Manganese-54. *Bollett. di Zool.*, Turin, 32 (2), p. 331-342.
- CENS-TACHOIRES B. (sans date). - Le rôle des Mollusques dans la transmission des Helminthes. Mémoire réonéotypé, Ecole Nat. Vét. d'Alfort, 31 p.
- CHEVALLIER H., 1970. - Les Limaces de Bretagne, *Penn ar Bed*, Brest, 7 (n°62), p. 370-389.
- CHEVALLIER H., 1972. - Arionidae (Mollusca, Pulmonata) des Alpes et du Jura français. *Haliotis*, Brest, 2 (1), p. 7-23.
- FOULQUIER L., BOCARD P. et GRAUBY A., 1967. - Contamination expérimentale de *Margaritana margaritifera* L. par le césium 137. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 265 (sér. D), p. 1745-1748.
- HITIER P., 1968. - Rôle des Limaces dans l'évolution et la transmission des Helminthes. Thèse, Ecole Nat. Vét. d'Alfort, 90 p. + 4 p.
- PAMPIGLIONE S. et TOFFOLETTO F., 1971. - Molluschi di interesse parassitologico-medico in Italia. *Riv. Parassit.*, (giugno, 32 (2), p. 113-134.
- PROKOP O., GRAFFIA A. et SCHNITZLER S., 1968. - "Immunochemical Endgrouping" mit *Helix* - Agglutinenen an Aszitestumorzellen. Vergleich mit den Blutzellen der Tiere. *Acta biol. germ.*, 20, p. 9-15.
- RAVERA O. et OREGIONI B., 1971. - Assunzione ed eliminazione di radiostronzio (85 Sr) e di radiocésio (134 Cs) da parte di *Unio mancus* Pfeiffer (Mollusca Lamellibranchiata). *Atti Soc. It. Sc. Nat. e Museo Civ. St. Nat. Milano*, 112-3, p. 335-340.

## LEGENDE DES FIGURES

Fig. 1 à 6 · Limaciens déprédateurs de cultures en Europe occidentale. Animal en demi-extension et partie supérieure de l'appareil génital de l'espèce.

A : atrium génital, Al. atrium inférieur, AP : appendice pénial, AS : atrium supérieur, E : épiphallus, GV : glandes vaginales, P : oviducte, OS : ovispermiducte (= canal godroné), P : pénis, R : muscle rétracteur, RS : réceptacle séminal (= poche copulatrice).

Fig. 1 : *Deroceras reticulatum* (Müller) (= *Agriolimax reticulatus*). a : variété typica (= *reticulata*), b. var. *pallida*.

Fig. 2 : *Deroceras laeve* (Müller) (= *Agriolimax laevis*). a : var. *typica* (= *brunnea*), b : var. *grisea*, c : forme avec appendice pénial, d. forme sans appendice, e : forme aphallique.

Fig. 3 : *Milax sowerbyi* (Férussac).

Fig. 4 : *Milax budapestensis* (Hozay).

Fig. 5 : *Arion hortensis* Férussac.

Fig. 6 : *Arion circumscriptus* Johnston (= *A. fasciatus* aut. angl.).

Fig. 7 : *Helicella unifasciata* (Poiret) (= *H. candidula* Studer) (d'après W. Adam).

Fig. 8 : *Helicella itala* (Linné) (= *H. ericetorum* Müller) Vecteur de la Petite Douve.

Fig. 9 : *Lymnaea truncatula* (Müller), Vectrice de la Grande Douve.

Fig. 10 : *Bulinus truncatus* (Audouin) = *B. contortus* (Michaud), Vecteur de la Schistosomiase du Bétail et de la Bilharziose vésicale humaine.

Fig. 11 à 16 · Escargots du genre *Helix* consommés en France.

Fig. 11 : *Helix pomatia* Linné (Escargot de Bourgogne, Escargot des Vignes, « Gros Blanc »).

Fig. 12 : *Helix lucorum* Linné (« Escargot turc »).

Fig. 13 : *Helix lucorum* L., var. *radiosa* Ziegler.

Fig. 14 : *Helix aspersa* Müller (Escargot « Petit gris », « Cagouille » dans le Sud-Ouest, « Carago » en Provence).

Fig. 15 : *Helix melanostoma* Draparnaud (« Terrassier » en Provence).

Fig. 16 : *Helix aperta* Born (« Tapado » en Provence).

Fig. 17 : *Cepaea nemoralis* (Linné) et Fig. 18 : *Cepaea hortensis* (Müller).

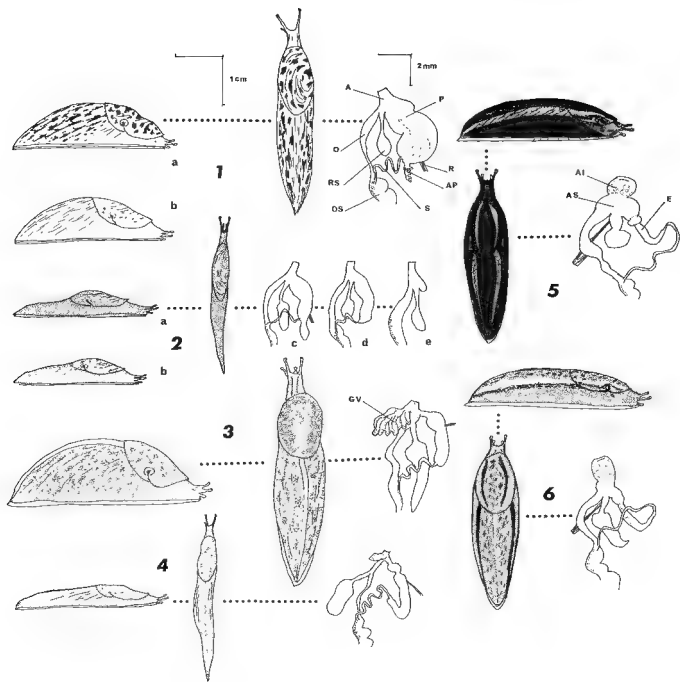
« Escargots des jardins », comestibles, occasionnellement déprédateurs, utilisés dans la recherche immunohématologique.

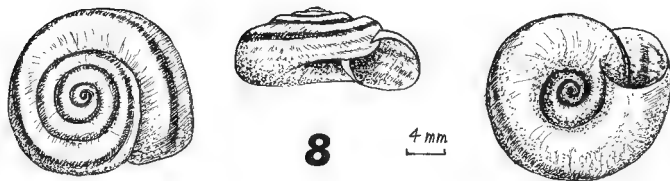
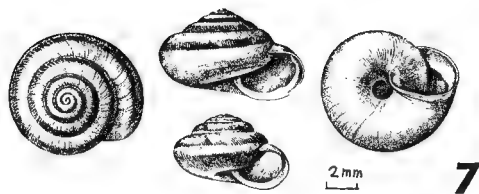
Fig. 19 : *Euporypha pisana* (Müller), « Escargot des dunes », comestible et déprédateur.

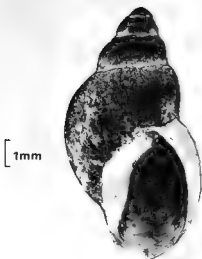
Fig. 20 : *Helicella cespitum* (Draparnaud), comestible.

Fig. 21 : *Eobania vermiculata* (Müller), comestible (« Mourguette » en Provence).





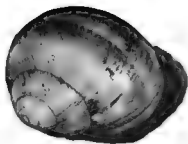




**9**



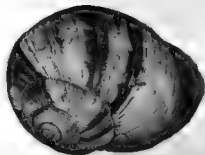
**10**



**11**



**12**



**13**



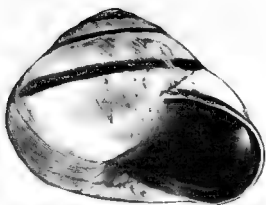
**14**



**15**



**16**



**17**



**18**



**19**



**20**



**21**

6 mm

## DEGATS CAUSES PAR LES LIMACES EN GRANDE-BRETAGNE

par A. SOLTU (1)

### RESUME

Les limaces provoquent dans les cultures horticoles et agricoles, des dégâts de plus en plus importants. Il existe une corrélation étroite entre les cultures de blé et de pommes de terre dans l'est de la Grande-Bretagne et l'importance des populations de limaces.

Sur céréales, la limace est considérée comme étant le troisième ravageur par ordre d'importance. La perte annuelle peut être estimée à 10 - 17 000 ha (1 à 2 % des surfaces) ce qui équivaut à une perte financière de 191 700 £ (1967).

Sur pommes de terre la limace occupe aussi la troisième place. Les pertes annuelles causées par ce ravageur se montent à 30 - 40 000 t. par an et la perte financière à 645 700 £.

Les pommes de terre présentent une susceptibilité différente selon les variétés. Des facteurs biochimiques et liés à la structure de l'épiderme du tubercule pourraient en être responsables.

### SUMMARY

The extent of slug damage to many agricultural and horticultural crops in Great Britain has become increasingly apparent. There is a straight correlation between the cultures of wheat and potatoes in the east of Great Britain and the meaning of the slugs populations.

Slugs are the third most important pest for the winter wheat. The annual loss is estimated at 10 - 17,000 ha (1 or 2 % of the total crop). The total financial loss is estimated at £ 191,700.

Slugs are also the third most important pest for the potatoes. The annual loss is estimated at 30 - 40,000 t per year and the financial loss at £ 645,700.

The potatoes offer an interesting varietal susceptibility. Biochemical and at the structure of the epidermis bound factors would be responsible of this phenomenon.

\* \* \* \*

Au cours des 15 à 20 dernières années l'importance des dégâts causés par les limaces sur de nombreuses productions horticoles et agricoles en Grande-Bretagne est devenue de plus en plus apparente. Cependant il est très difficile d'obtenir des informations précises sur l'importance économique de ces dégâts et elles tendent à être beaucoup plus sujettes à caution que celles correspondant aux dommages causés par des insectes. Des comptes rendus concernant les dégâts dus aux limaces montrent qu'il y a parfois confusion avec ceux provoqués par d'autres ravageurs comme les larves d'Elaterides, de Hanneçons, de Tipules et même les lapins ou les oiseaux.

(1) Department of Biological Sciences. City of London Polytechnic, Jewry Street, LONDON EC3N 2 EY.

En Grande-Bretagne les espèces de ravageurs les plus importantes sont *Agriolimax reticulatus* (Müll.), *Arion hortensis* Fér., et *Milax budapestensis* (Hazay); à côté de ces espèces nous pouvons aussi citer *Arion fasciatus* (Nilss.) et *Milax sowerbyi* (Fér.). Quoique signalés comme ravageurs éventuels, *Arion ater* (L.) et *Arion subfuscus* (Drap.) n'ont relativement que peu d'importance. On a rapporté à plus d'une occasion qu'*Agriolimax caruanae* Poll. produisait des dégâts (Runham et Hunter, 1970) et cette espèce peut être rendue responsable d'une partie des dommages imputés à *A. reticulatus*.

Hunter (1969) a montré que les pourcentages des récoltes endommagées n'étaient pas répartis également sur tout le Pays de Galles et l'Angleterre mais que ce pourcentage était plus important dans les comtés orientaux. Ceci peut être mis en relation avec les cultures de blé et de pommes de terre, les deux cultures les plus touchées par ces ravageurs dans ces régions. Il trouva que la distribution des dégâts importants était localisée et en relation étroite avec la distribution des sols lourds et argileux. Ceci est en accord avec les conclusions de Gould (1961).

## CULTURES HORTICOLES

Il y a peu, s'il y en a, d'estimations sérieuses de l'importance des dommages causés par les limaces sur les productions horticoles, mais il semble hors de doute que les limaces sont responsables de pertes considérables dans ce secteur. Les conditions offertes par les activités horticoles sont particulièrement favorables aux limaces, les très petits jardins maraîchers, spécialement, offrent une grande diversité d'habitats à l'intérieur d'un espace relativement restreint. La teneur du sol en matière organique est normalement élevée et des abris supplémentaires sont constitués par la paille et les débris végétaux pourrissants à la surface du sol ainsi que par les cloches, les châssis et pots de fleurs. Deux cultures particulièrement touchées sont les laitues et les choux de Bruxelles. D'autres cultures sont fréquemment endommagées ainsi que d'autres crucifères (choux-fleurs, brocoli, choux, etc...), les carottes, le céleri et les pois français à rames, etc... Des dommages ont été signalés sur d'autres cultures : concombres, endives, etc... Dans bien des cas la plupart des dégâts sont causés aux semis. Une augmentation des dégâts a été signalée sur les fraises en phase de maturation et ceci doit être dû en partie à l'emploi de cloches en polythène. Nous avons rarement vu de dommages causés aux cultures d'oignons et de panais.

Plusieurs cultures florales et ornementales sont endommagées. Les parties souterraines (bulbes et tubercules) peuvent être évidées et le feuillage qui émerge déchiqueté ou les jeunes pousses de plantes pérennes peuvent être broutées. Le feuillage âgé et les fleurs sont parfois attaqués eux aussi par les limaces.

## GRANDES CULTURES

Les dégâts causés par les limaces ont été signalés sur un grand nombre de grandes cultures mais les dégâts les plus sérieux sont bien sur les céréales d'hiver et les pommes de terre. Ces deux dernières seront examinées séparément.

Nous n'avons connaissance que de dommages insignifiants sur les cultures de navets, rutabaga et betteraves fourragères. Les semis de betteraves sucrières sont attaqués mais on estime qu'après le stade 1 feuille, 30 % de la plante peut être enlevée sans effet significatif sur la récolte (Johnson, 1967). Strickland (1965) considère aussi que les dégâts causés en moyenne par les limaces sur les betteraves à sucre sont inférieurs à 0,1 % de toute la surface plantée. Cependant, Runham et Hunter (1970) considèrent que les dégâts vont devenir plus importants lorsque la façon traditionnelle de semer la betterave sera abandonnée au profit de celle du taux plus faible de semence, utilisant des graines monogermes.

Les fèves (*Vicia faba*), spécialement les variétés d'hiver sont souvent attaquées par les limaces aux premiers stades de leur croissance. Il n'existe que peu de données concernant les cultures de pois mais Runham et Hunter (1970) ont montré comment les limaces peuvent constituer une source gênante de souillure lorsque les pois sont récoltés avant la gelée.

Des dégâts significatifs, la plupart du temps occasionnés aux jeunes semis, ont été signalés sur plusieurs cultures fourragères, telles que le trèfle, la luzerne, le chou fourrager, le chou, le maïs et très occasionnellement le colza. Les limaces peuvent endommager les jeunes semis de graminées en broutant les pousses émergeant le sol. Il est évident que les graminées cultivées sont préférées et, par exemple, la fétuque S-53 semée sous orge est gravement touchée alors que les graminées sauvages telles que *Poa annua* et *Agrostis sp.* sont délaissées.

## LES CEREALES

Les limaces constituent l'un des trois ravageurs les plus importants sur le blé d'hiver (Runham et Hunter, 1970). Il y a deux types de dégâts sur céréales et ils ont été illustrés par Anon (1968) et Gould (1961). Le premier et le plus sérieux est l'évidement du grain résultant de la consommation du germe et de l'endosperme avant la germination, l'autre type de dommage provient de la consommation des jeunes pousses au moment de leur apparition. Quelques-uns de ces dégâts, surtout ceux de la base des tiges, peuvent être confondus avec ceux produits par des larves d'Elatérides.

L'effilochage des feuilles qui en résulte peut retarder la croissance de la plante et même la tuer spécialement lorsque la température est basse. Il est difficile d'estimer les dégâts causés par les limaces sur blé d'hiver. Jessop (1969) enleva à la main des plants de blé d'hiver pour simuler les pertes causées à différents niveaux d'attaque. Il trouve que les pertes sont compensées par un tallage plus important des plantes restant en place, ce qui donne une perte à la récolte égale à 19 % pour un dégât simulé sur semis équivalent à 75 % en décembre (pertes actuelles comprises entre 56 et 72 %) ce qui ne justifie en général pas un second labour de la parcelle suivi d'un ensemencement en blé de printemps. Cependant les conclusions de Jessop s'appliquent à une parcelle éclaircie au hasard et, dans des conditions normales, les dégâts sont distribués par tâches et il peut être justifié de ressemer ces plaques où le tallage ne compensera pas la perte de récolte.

Des dégâts ont été signalés sur d'autres céréales d'hiver telles que l'orge, l'avoine et même le seigle, mais relativement sur une plus petite échelle. Il y a à cela différentes raisons. Dans le cas du seigle cela est dû probablement à la faible superficie occupée par cette culture. Traditionnellement l'avoine et l'orge sont semées au printemps (5 - 7 % seulement de la superficie totale en orge est semée en orge d'hiver) et les céréales printanières, comprenant le blé, ne sont pas aussi sensibles parce qu'elles germent et s'établissent plus vite, ce qui donne aux limaces moins d'occasion de destruction. Des dégâts cependant, ont été signalés à toutes les céréales de printemps de temps à autre. Il semble évident que les grains d'avoine sont moins gâtés. Duthoit (1964) trouve, par des essais de laboratoire, que *A. reticulatus*, l'espèce la plus fréquemment responsable de dégâts sur céréales, montre une préférence pour les grains de blé si on lui donne le choix entre l'avoine, l'orge et le blé. *Arion hortensis* et *Milax budapestensis* montrent un goût plus marqué, sinon même une préférence pour l'orge. Les semences d'avoine sont délaissées par les trois espèces et Duthoit suggère que l'avoine peut être plantée dans les champs reconnus infestés par les limaces.

Gould (1961) montra que les limaces ont plus de chances d'être un ravageur sérieux sur blé d'hiver, après un été humide, sur un terrain lourd, spécialement lorsque le lit de semence est très grossier et riche en mottes. Il trouve aussi que les dégâts sont plus fréquents lorsque le blé d'hiver suit la récolte de pois secs, de fourrage ou de céréales (si le chaume est enfoui sans brûlage préalable) et de graines de crucifères. Ceci probablement parce que la grande quantité de débris végétaux enfouis est à l'origine d'une source de nourriture et augmente la capacité de rétention en eau du sol. Les dégâts sont moins à craindre après jachère, pomme de terre et betterave sucrière. Ces cultures reçoivent plus de façons culturales que celles du premier groupe et Hunter (1967) montre que le travail de la terre peut réduire d'une manière significative le nombre de limaces en sol arable. Les populations de limaces sont aussi réduites après les pois à rames, probablement parce qu'ils sont enlevés juste après la récolte des pois.

Les dégâts de limaces sur blé d'hiver peuvent augmenter considérablement avec le développement des techniques de façon culturale minimale, impliquant le parquage suivi d'un labour superficiel, et ceci sur sol sableux où *A. reticulatus* n'était pas commune. Les populations de cette limace, abritées par les débris provenant de la récolte précédente, augmentent de telle manière que les jeunes blés sont sérieusement endommagés. Sur les parcelles adjacentes labourées il n'y a que peu de limaces et peu de dégâts. Dans des sols plus lourds le labour superficiel ne semble pas avoir pour effet d'augmenter les populations d'*A. reticulatus*.

Il est difficile d'estimer en Grande-Bretagne l'importance des dégâts dus aux limaces sur le blé car il y a des variations importantes d'une année à l'autre et d'une région à l'autre, selon le climat, le type de sol, etc. Strickland (1965) estime qu'en Angleterre et Pays de Galles, les limaces sont responsables d'une perte moyenne d'environ 17 000 hectares - équivalents sur un total de 745 000 ha, c'est-à-dire de 2,2 %. Hunter considère que cette estimation est trop élevée car elle est basée sur les travaux localisés dus à Gould (1961) et à Duthoit (1964). Ses propres estimations

sont basées sur une étude extensive des dommages causés par les limaces sur blé d'hiver et pommes de terre pour l'Angleterre et le Pays de Galles pendant l'automne 1966 et le printemps 1967. De cette étude Hunter conclut que sur 881 000 ha, environ 10 000 ha (1,1 %) ont dû être ressemés et entre 4 000 et 5 000 ha (0,5 %) traités aux pesticides. La perte financière totale est estimée à 191 700 £. On doit noter cependant que cette estimation n'a été effectuée que sur une seule année. Quoique la perte économique totale soit basse, les conséquences économiques des dommages causés par les limaces peuvent être importantes pour des fermiers qui peuvent perdre une partie appréciable de plusieurs cultures à cause de la répartition en tâches des dégâts causés par les limaces.

## POMMES DE TERRE

Les limaces occasionnent des dommages aux pommes de terre en creusant des trous dans les tubercules, un tubercule présentant souvent plusieurs trous. Ces trous peuvent être distingués d'autres dégâts, causés par les larves d'Elaterides et de hannetons, en ce qu'ils consistent en un petit orifice auquel fait suite une grande chambre sous-jacente. Les dégâts se produisent normalement dans les champs mais aussi pendant le stockage, spécialement lorsque les tubercules sont stockés en silos temporaires. Les dégâts causés par les limaces rendent le tubercule plus sensible aux autres ravageurs et aux maladies, en particulier aux pourritures d'origine bactérienne. Les limaces peuvent être aussi impliquées dans la transmission de la brunissure des pommes de terre selon Webley (in Runham et Hunter, 1970).

Il y a quelques contestations quant aux espèces attaquant les tubercules mais il semble que toutes les espèces, comprenant *A. reticulatus*, causent les premiers dégâts aux pommes de terre quoiqu'il existât des différences régionales dans l'importance de chaque espèce. Stephenson (1965) montre 15 variétés de pommes de terre dans le Kent en 1968 (Taylor, communication personnelle). Ces essais comprenaient plusieurs variétés précoces traitées comme des cultures principales. Les tubercules furent laissés en place jusqu'en octobre et on enregistra selon la variété la proportion de tubercules endommagés. On n'a exprimé ici que la proportion de tubercules attaqués, mais les résultats sont identiques si l'on mesure les dégâts en ml mangés par 1 000 g de tubercule examiné.

Warley (1970) montre qu'il peut y avoir une différence considérable dans la perte financière : par exemple, pour Majestic, un peu plus de 4,5 £ par ha, et King Edward de 10 à 62,5 £/ha. La perte subie par Pentland Dell est négligeable.

On a suggéré que les variétés précoces étaient plus résistantes aux limaces mais alors que ceci est vrai pour de nombreuses variétés (Tab. 1), une variété, Epicure, est la plus sensible. L'absence de dégâts sur les tubercules les plus précoces est probablement due au fait qu'ils sont ramassés avant l'attaque des limaces et avant que les tubercules ne soient mûrs. Les dégâts causés aux pommes de terre formant la récolte principale sont généralement légers durant le début de l'été, augmentent rapidement à partir d'août et dans l'est de l'Angleterre jusqu'à dix fois entre le 1er septembre et le 1er octobre (Runham et Hunter, 1970). Cette augmentation peut être due à l'interaction de différents facteurs.

D'abord, l'activité des limaces est souvent réduite par manque d'humidité pendant la première partie de l'été. Stephenson (1967) suggère que l'activité des limaces est limitée aux sillons jusqu'à ce que les fanes soient enlevées en automne, exposant les billons à la pluie, mais Warley (1970) montre que depuis août, malgré une couverture complète du terrain par la végétation, des averse importantes mouillent le billon sensiblement de la même manière que le sillon. Ensuite, la plupart des informations disponibles, c'est-à-dire Bett (1960), Runham et Hunter (1970), Warley (1970), montrent que le nombre et la taille des limaces augmentent en automne lorsque les dégâts causés sont les plus importants quoiqu'il y ait de grandes différences dues à la région, à l'année, dans l'époque de la ponte et son importance. Puis, Hunter et al (1968) pensent que les dégâts causés aux tubercules sont plus importants après l'arrachage des fanes parce qu'une alternative d'alimentation a, du même coup, disparu. Mais Pinter (1969) et Warley (1970) montrent que ceci n'est pas vrai et que l'arrachage précoce des fanes n'affecte pas l'importance des dégâts causés par les limaces. Finalement l'augmentation automnale des dégâts doit être mise en relation avec la maturation des tubercules après que la croissance ait cessé (Thomas, 1947). Pinter (1969) montre que les tubercules de Majestic plantés le plus tôt sont significativement plus attaqués que ceux de végétaux plantés un mois plus tard et donc mûres plus tard.



Les mécanismes de la sensibilité différentielle des variétés ne sont pas encore expliqués. Stephenson (in Johnson, 1969) pense que les limaces doivent localiser les tubercules dans le sol grâce à la détection des substances hydro-solubles diffusées par les tubercules. Il pense aussi que les limaces ont un comportement alimentaire stimulé par le sucrose, les acides chlorogéniques et d'autres substances et que leur concentration dans les tubercules doit déterminer la portée des dégâts. Ces résultats, cependant, donnent des mesures contradictoires pour les différentes espèces de limaces, Stephenson (in Johnson, 1964) pense que les limaces n'attaquent que rarement les tubercules intacts.

Si les tubercules diffusent des matières hydro-solubles, elles doivent varier en fonction de la variété, qualitativement et quantitativement. Taylor (communication personnelle) compte les limaces dans des blocs de sol de 0.02 m3 de volume prélevés au voisinage de racines et de tubercules de douze plants, et ceci pour quatre variétés (Tab. 2). Il n'y a pas de différence significative entre les variétés de pommes de terre. Warley (1970) obtient des résultats analogues. Il semble donc improbable que la différence d'excrétion racinaire soit responsable de la variabilité de la sensibilité.

Warley (1970) discute de la nature de cette sensibilité due à la variété et avance l'hypothèse qu'une substance répulsive est probablement présente chez les variétés les plus résistantes et qu'une substance attractive existerait chez les variétés les plus sensibles. Il prétend que le périoderme du tubercule peut former une barrière mécanique à l'attaque des limaces mais ne trouve pas de relation suffisante entre la sensibilité et l'épaisseur de la peau, sa robustesse ou sa teneur en fibres grossières.

J'ai récemment examiné la surface de la peau de tubercules matures de huit variétés de pommes de terre au microscope électronique à balayage. Les photos 1 et 2 montrent le résultat pour les variétés Majestic et King Edward. On peut voir que les parois des cellules subérifiées demeurent intactes chez Majestic alors que chez King Edward elles semblent brisées et élevées au-dessus de la surface de la peau. Ce qui suggère que la rupture de la couche subérifiée peut-être à maturité, rend plus vulnérable quelques variétés à l'action de la radula de la limace. Cette différence entre les variétés résistantes et sensibles est constante pour les huit variétés étudiées. Alors que la texture de la peau peut varier suivant les différents sols, ces observations peuvent expliquer en partie, premièrement, l'augmentation de dégâts à maturité et deuxièmement, la différence de sensibilité selon les différentes variétés. Le travail des auteurs cités ci-dessus laisse à penser que des facteurs biochimiques sont impliqués également dans le phénomène de la sensibilité différentielle.

Je remercie ici pour son travail Mr T. Taylor, dont plusieurs données sont publiées ici.

Tableau 1 - Pourcentage de tubercules endommagés pour quinze variétés de pommes de terre. Essai effectué dans le Kent en 1968.

Variétés	% de tubercules endommagés
Sharpes Epress (F.E.)	3,1
Home Guard (F.E.)	5,7
British Queen (F.E.)	6,4
Cautiona (F.E.)	6,5
Ulster Supreme (M.)	8,1
Craigs Royal (S.E.)	9,5
Majestic (M.)	11,0
Kerrs Pink (L.M.)	11,8
Arran Nanner (E.M.)	12,3
Dr Mc Intosh (E.M.)	13,9
Great Scot (E.M.)	17,9
Fir Apple (S.)	18,4
King Edward (E.M.)	18,9
Pentland Crown (E.M.)	19,8
Epicure (F.E.)	20,1

F.E. Très précoce - S.E. Précoce - E.M. Normale précoce - M Normale - L.M Normale tardive

Tableau 2 - Nombre total de limaces retrouvées dans des échantillons de 0,02 m3 de sol prélevés au niveau des racines et des tubercules de quatre variétés de pommes de terre (12 plantes / échantillon).

Espèces	Variétés de pommes de terre			
	King Edward	Home Guard	Pentland Crown	Majestic
<i>Agriolimax reticulatus</i>	16	21	8	13
<i>Arion hortensis</i>	64	42	46	50
<i>Arion fasciatus</i>	9	2	2	4
<i>Milax budapestensis</i>	15	12	21	15

\* \* \* \*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anon., 1968. **Slugs and snails**. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Advisory Leaflet 115. H.M.S.O. : London.
- Bett, J. A., 1960. The breeding seasons of slugs in gardens. *Proc. zool. Soc., Lond.*, **135** : 559-68.
- Duthoit, C.M.G., 1964. Slugs and food preferences. *Pl. Path.*, **13** : 73-8.
- Gould, H.J., 1961. Observations on slug damage to winter wheat in East Anglia, 1957-1959. *Pl. Path.*, **10** : 142-6.
- Gould, H.J., 1965. Observations on the susceptibility of maincrop potato varieties to slug damage. *Pl. Path.*, **14** : 109-11.
- Hunter, P.J., 1967. The effect of cultivations on slugs of arable ground. *Pl. Path.*, **16** : 153-6.
- Hunter, P.J., 1969. The extent of slug damage to wheat and potatoes in England and Wales. *N.A.A.S.Q. Rev.*, **85** : 31-7.
- Hunter, P.J., Symonds, B.V. and Newell, P.F., 1968. Potato leaf and stem damage by slugs. *Pl. Path.*, **17** : 161-4.
- Jessop, H.H., 1969. The effects of simulated slug damage on the yield of winter wheat. *Pl. Path.*, **18** : 172-5.
- Johnson, G., 1964. Entomology department annual report. *Rep. Rothamsted exp. Sta.*, 146-60.
- Johnson, G., 1967. Entomology Department annual report. *Rep. Rothamsted exp. Sta.*, 197-8.
- Johnson, G., 1968. Entomology Department annual report. *Rep. Rothamsted exp. Sta.*, 199-222.
- Johnson, G., 1969. Entomology Department annual report. *Rep. Rothamsted exp. Sta.*, 231-53.
- Pinder, L.C.V., 1969. The biology and behaviour of some slugs of economic importance, *Agriolimax reticulatus*, *Arion hortensis* and *Milax budapestensis*. Ph. D. Thesis, University of Newcastle upon Tyne.
- Runham, N.W., and Hunter, P.J., 1970. **Terrestrial slugs**. Hutchinson : London.
- Stephenson, J.W., 1965. The effects of irrigation on damage to potato tubers by slugs. *Europ. Potato J.*, **8** : 145-9.
- Stephenson, J.W., 1967. The distribution of slugs in a potato crop. *J. appl. Ecol.*, **4** : 129-35.
- Strickland, A.H., 1965. Pest control and productivity in British agriculture. *Jl. R. Soc. Arts*, **113**, 62-81.
- Thomas, D.C., 1947. Some observations on damage to potatoes by slugs. *Ann. appl. Biol.* **34** : 246-51.
- Warley, A.P., 1970. Some aspects of the biology, ecology and control of slugs in S. E. Scotland with particular reference to the potato crop. Ph. D. Thesis. University of Edinburgh.

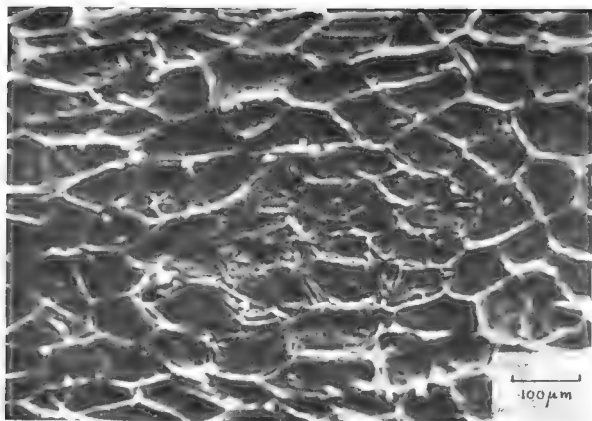


Photo 1 - Surface de la peau du tubercule mûre de pomme de terre chez la variété Majestic.

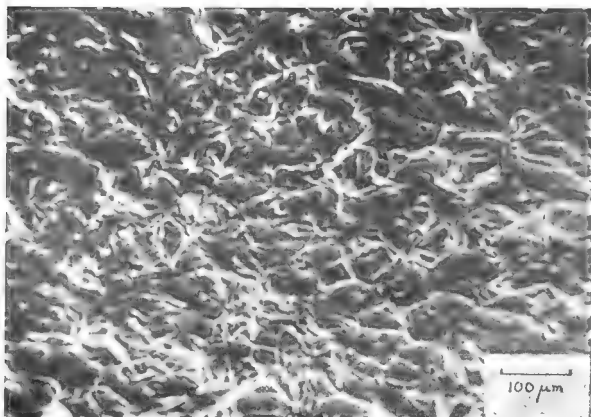


Photo 2 - Surface de la peau du tubercule mûr chez la variété King Edward.



# LES DEGATS DES LIMACIDES ET DES ARIONIDES ET LEUR IMPORTANCE ECONOMIQUE EN REPUBLIQUE FEDERALE D'ALLEMAGNE

par D. GODAN (1)

## RESUME

L'importance des dégâts causés aux cultures par les limaces est mal connue. Les rapports du Service de Protection des Végétaux ont été utilisés. La situation est analysée par culture et par région. Le rôle de chaque espèce nuisible est précisé.

## SUMMARY

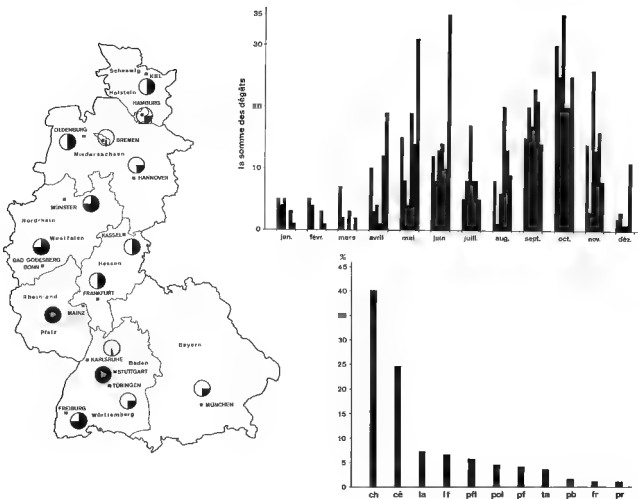
Quantitative damages of slugs on crops are not well known. Reports of Plant Protection Office are used to determine them. An analysis is done per crop and per region. The importance of every species is established.

\* \* \* \*

Jusqu'à présent il n'y a pas de travail complet sur les dégâts des Limacides et des Arionides en Allemagne. Le présent exposé est fait sur la base d'une analyse, au cours de dix années de 1962 jusqu'à 1971, grâce aux rapports fournis au Centre Fédéral des Recherches Biologiques pour l'agriculture et l'exploitation forestière en Allemagne. Il est de règle que les Offices pour la Protection des Plantes de la République Fédérale dans les divers départements donnent chaque année un rapport sur les dégâts des insectes et des mollusques dans les cultures agricoles et horticoles. Ces rapports fournissent des indications sur l'importance du dommage aux cultures attaquées, ainsi que sur les variations de température et d'humidité, et finalement des observations sur les habitudes des limaces nuisibles.

La figure 1 montre la distribution et l'importance des dégâts qui ont été communiqués par les Offices pour la Protection des Plantes au Centre Fédéral des Recherches Biologiques à Berlin-Dahlem. Les effets nuisibles sont très différents d'un district à l'autre. Le cercle plein noir indique les dégâts les plus grands et la petite bande dans le cercle traduit des dégâts très peu importants : entre les deux, il y a des effets nuisibles intermédiaires. Pendant la décennie considérée, c'est-à-dire de 1962 à 1971, il n'y a, dans le territoire relevant des Offices de Brême et de Karlsruhe, presque aucun dégât d'une certaine importance économique causé par les limaces. Mais au contraire, des dommages très importants ont été trouvés dans les régions de Rhénanie-Palatinat, de Bade-Württemberg, et cela, dans le territoire relevant des Offices de Stuttgart et de Fribourg-en-Brisgau.

(1) Biologische Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft, Institut für Zoologie, Berlin-Dahlem.



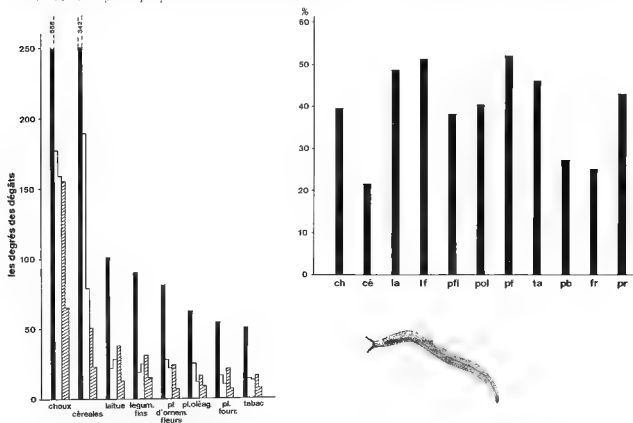
Dans les champs et les jardins de la Rhénanie de Nord Westphalie il existe actuellement des dégâts très importants. Mais, il est intéressant de noter que les régions au bord de la Mer du Nord, c'est-à-dire dépendant des Offices de Kiel et d'Oldenburg, n'accusent pas de dégâts particulièrement élevés en comparaison des districts relevant des autres Offices. Cela semble curieux parce que ces régions situées au bord de la Mer du Nord offrent une humidité qui détermine normalement un milieu favorable à la pullulation des gastéropodes. La cause de ce phénomène pourrait être la prédominance des prairies et des pâturages alors que la culture, sur de grandes surfaces, des céréales et des choux, est en régression. Or, dans les rapports des Offices de Kiel et d'Oldenburg les prairies apparaissent au dernier rang des cultures attaquées par les limaces.

La figure 2 montre la distribution des dégâts pour les différents mois de l'année. Les six colonnes représentent les observations des six Offices pour la Protection des Plantes de Kiel, Hanovre, Oldenburg, Kassel, Francfort-sur-le-Main et Fribourg-en-Brigau, signalant des dommages moyens à très élevés. Ils sont concentrés sur certains mois car il y a deux maxima : l'un aux mois de mai et de juin et l'autre en automne, à savoir de septembre à novembre. En hiver, de décembre à février et peut-être aussi en mars, les dégâts sont minimes, bien que les Limacides, et surtout l'espèce *Agriolimax*, cherchent leur nourriture pendant l'hiver sur les cultures agricoles quand le temps le permet, c'est-à-dire, s'il ne fait pas trop froid. Pourtant les limaces sont très nuisibles aux plantes de serre, en hiver aussi. En Allemagne, nous désignons les petites limaces grises sous le nom de *Deroceras*.

Pendant les dix années, le Centre Fédéral des Recherches Biologiques a reçu 1388 rapports que j'ai employés pour mon exposé (fig.3). Ces rapports montrent que les différentes cultures agricoles et horticoles n'accusent pas toutes la même importance pour les dommages causés par les mollusques : les pourcentages sont très variables. Dans la plupart des rapports les choix accusent les dégâts les plus grands, soit 40 %. Puis viennent les céréales d'hiver, comme le seigle, le blé et l'escourgeon, avec une importance de dommage de 24 %. Les autres cultures se trouvent loin

derrière les choux et les céréales, avec une importance de dommage de 7 à 4 % du nombre total des rapports ; ce sont les cultures spéciales de laitues (en champ et en jardin), les légumes fins, les plantes d'ornement, c'est-à-dire les plantes vivaces et tuberculeuses et aussi les fleurs, ainsi que les plantes oléagineuses et les plantes fourragères comme le trèfle, la luzerne et le maïs. Une importance de 3,6 % seulement revient aux jeunes plants de tabac. Les pommes de terre et les betteraves n'accusent ensemble qu'une importance de 1,6 %, tandis que les fraises et aussi les prairies représentent encore moins, soit 1,0 % seulement des rapports transmis au Centre Fédéral des Recherches Biologiques. Je compte comme légumes fins - un peu arbitrairement - les cultures spéciales suivantes : haricots, pois, concombres, carottes, radis noir, etc...

A part les choux et les céréales, ces pourcentages donnent une idée de la fréquence des diverses cultures sur le territoire de la République Fédérale d'Allemagne, quoique les surfaces de ces cultures spéciales interviennent dans des proportions différentes. Mais il en va autrement pour les cultures des choux et des céréales d'hiver. Il est vrai que les surfaces de culture des céréales sont extraordinairement plus grandes que celles des choux, mais cependant ce sont les choux qui occupent la première place, après les autres cultures agricoles et horticoles, comme les rapports des Offices pour la Protection des Plantes nous le montrent. Cela prouve que les limaces nuisibles préfèrent les choux aux céréales. C'est seulement l'extension énorme de la culture des céréales qui fait paraître exagérément les dégâts dus aux limaces et aussi les pertes qui rendent nécessaires de nouvelles semailles. Selon les rapports des Offices, pour les céréales d'hiver ce sont les dégâts minimes et moyens qui prévalent



La figure 4 indique dans quelle mesure une culture déterminée a souffert de l'attaque des limaces nuisibles. Les colonnes noires représentent les nombres absolus des rapports qui ont été fournis au Centre Fédéral des Recherches Biologiques à Berlin-Dahlem, pour les différentes cultures. Les dégâts d'une importance minime et moyenne sont traduits par les colonnes blanches, les dommages importants et très importants par les colonnes hachurées.

Les choux forment une proportion beaucoup plus grande des rapports de dégâts que les céréales d'hiver, à savoir 556 pour les choux et 342 pour les céréales. Ce sont les choux qui ont subi les dégâts les plus importants de la part des Limacidae. Bien qu'elles couvrent une surface plus petite que les choux et les céréales, les cultures restantes doivent aux limaces nuisibles beaucoup plus de pertes importantes et très importantes que de petites. Les colonnes hachurées le montrent pour les cultures de laitue, de légumes fins, de plantes d'ornement, de plantes oléagineuses, de plantes fourragères et de tabac. C'est la même chose pour les fraises qui ne figurent pas ici.

La figure 5 donne pour une culture déterminée le pourcentage des dégâts importants et très importants pour l'ensemble des rapports pendant cette période de dix années. Les mollusques, spécialement les petites limaces grises, ont joué un rôle prédominant dans toutes les cultures, sauf les céréales d'hiver. Les pourcentages étaient même encore plus élevés ou au moins équivalents à ceux des choux, pour ce qui concerne la laitue, les légumes fins, les plantes d'ornement, les plantes fourragères, le tabac et les prairies.

Les rapports quantitatifs entre les espèces cultivées de choux s'établissent comme suit pour ces dix dernières années : choux-pommes : 536, choux rouges : 12, choux de Bruxelles et choux-fleurs : 12. Mais si l'on considère l'importance des dégâts, le chou de Bruxelles vient en tête avec 75 %, ensuite vient le chou-fleur avec 50 % et le gros chou avec seulement 38,8 %. C'est donc le chou de Bruxelles que les limaces préfèrent. Ainsi on a trouvé de 5 à 20 de ces mollusques par plante. Sur la laitue, il n'était pas rare de trouver de 5 à 10 limaces par plante.

Les rapports des offices pour la Protection des Végétaux font également ressortir les facteurs qui sont favorables ou défavorables à l'effet nuisible des gastéropodes. Ainsi les dégâts importants et très importants se sont trouvés liés aux facteurs suivants : en premier lieu, au temps humide, notamment sur pluie persistante ; en second lieu aux sols lourds qui, on le sait, conservent longtemps l'humidité ; troisièmement, à la situation du champ cultivé, à savoir le voisinage de prairies ou de pâturages, ou de friche ou de talus, etc. (ce sont les endroits couverts d'herbe ou de plantes herbacées qui restent assez humides pour favoriser la pullulation des gastéropodes) ; en quatrième lieu, à une croissance lente de la culture due à des baisses soudaines de la température au printemps ou en été, de sorte que la jeune plante reste trop longtemps à la phase de développement, ou pour ce qui est des céréales d'hiver, à la phase de germination dans le sol (ces phases sont très sensibles aux attaques par les limaces) ; enfin, cinquièmement, à un facteur favorable qui est l'ensemencement tardif en automne, comme on l'a observé sur les céréales d'hiver au mois de novembre.

Une preuve évidente en faveur du premier point souligné : le temps humide pendant la période de 1962 à 1971 a été à la base des dégâts très importants enregistrés d'avril à août sur les laitues et les fraises. Une seconde vague de dégâts dus aux limaces nuisibles s'est produite de septembre à novembre dans les cultures de céréales d'hiver. Pour ce qui est du troisième facteur favorable, un sol lourd avec de grosses mottes de terre et un sol argileux ont eu une grande influence sur l'attaque des limaces aux mois de septembre et de novembre, dans les cultures de plantes oléagineuses d'hiver, ainsi qu'en février-mars dans les céréales d'hiver. Au point trois, il faut signaler que la situation du champ cultivé par rapport au voisinage, par exemple de prairies, favorise les dommages d'avril à juin sur les laitues, les choux et les légumes fins, de même que sur les jeunes plants de tabac et, en automne, de septembre à novembre, sur les céréales d'hiver. Pendant leur période d'activité, le soir et le matin, les limaces passent des prairies limitrophes aux champs cultivés pour se nourrir. Le quatrième point, c'est-à-dire la croissance lente par exemple au mois d'avril, explique les pertes dans les cultures de tabac, de haricots et de concombres. En effet, une température fraîche peut faire traîner en longueur la croissance des plantes cultivées mais ne bloque pas l'activité des limaces parce que le temps frais est souvent accompagné d'un accroissement d'humidité.

D'autre part, les facteurs suivants sont défavorables à la pullulation des limaces nuisibles d'après les rapports des Offices, confirmés par notre expérience. Il s'agit, d'abord, d'un temps sec aux mois de juin et de juillet et aussi de septembre et d'octobre. Les deux maxima des attaques par les limaces (fig. 2) sont éliminés par le temps sec. Second facteur défavorable : la température se refroidissant tout à coup en été, comme on a pu l'observer pour la culture de la laitue dans les champs et, de plus, un coup de froid soudain ou une légère gelée au début de l'automne en septembre et octobre, ceci pour les céréales d'hiver et les plantes oléagineuses d'hiver. Dans ces circonstances on n'a signalé au Centre Fédéral des Recherches Biologiques que des dégâts peu importants.

Il n'existe pas, à ma connaissance, de relevé économique des pertes causées par les limaces aux différentes cultures en République Fédérale d'Allemagne. Sans doute ici les mollusques les plus nuisibles sont les Limacidae et surtout l'espèce *Agriolimax*, et aussi dans une mesure moindre, les autres Limacidae. Mais la famille des Arionidae joue un rôle plus faible et n'a qu'une importance locale. Par suite de l'attaque des limaces cherchant leur nourriture et de la souillure due au mucus et aux excréments on a constaté de grandes pertes de qualité dans les fraises, primeurs, carottes et choux. On a vu des cavernes dans le corps de la carotte et également des cavernes et des galeries creusées dans les choux ; parce qu'à l'intérieur d'un chou l'humidité due à la rosée du matin peut subsister, les limaces sont attirées et on en a trouvé de 20 à 30 dans une seule tête de chou.



Dans les caves et les magasins où les récoltes sont conservées, la limace des caves, *Limax flavus* L., provoque souvent des pertes importantes de qualité. Quoique notre plus gros Limacidé, la grande Limace cendrée (*Limax maximus* L.), apparaisse à l'occasion aussi dans les caves, elle vit principalement dans les jardins et les serres, où elle cause des dommages. Un déprédateur typique des plantes de serre est le petit Limacidé *Lehmannia marginata* (O. F. Müller). On ne le trouve fréquemment dans les serres à Berlin que depuis 1950.

La petite Limace *Boettgerilla vermiformis* Wiktor est apparue en Allemagne depuis 1962 et le rapport de l'Office de la Protection des Plantes à Berlin la signale dans les serres et les exploitations horticoles berlinoises depuis 1965. La limace appartient à la famille des *Parmacellidae*; elle est vermiforme et mesure 40 à 45 mm de longueur et 2 à 3 mm de largeur (fig. 6). Avec *Deroceras reticulatum* (O. F. Müller) – appelée en France *Agriolimax reticulatus* – et *Deroceras laeve* (O. F. Müller) et de plus *Arion hortensis* Férussac, elle a endommagé des chrysanthèmes dans les champs et des cyclamens en serres. L'espèce *Boettgerilla vermiformis* est venue des pays de l'est et s'est étendue en Allemagne du Centre jusqu'à la frontière hollandaise, en Allemagne du Sud et en Suisse. Il serait intéressant de savoir jusqu'où cette limace s'est avancée en Belgique et en France.

#### LEGENDE DES FIGURES

Fig. 1 : Distribution et intensité des attaques par les limaces dans la République Fédérale d'Allemagne, signalées par les Offices de la Protection des Plantes pendant 10 années (1962-1971).



Fig. 2 : Distribution des dégâts dans les différents mois au cours d'une année selon les rapports des dix Offices.

Fig. 3 : Pourcentage des différentes cultures selon les rapports (1388) des Offices au cours des dix années (1962-1971).

Les signes : ch = les choux, cé = les céréales d'hiver; la = la laitue; lf = les légumes fins, pfl = les plantes d'ornement et les fleurs; pol = les plantes oléagineuses; ta = le tabac; pb = les pommes de terre et les betteraves; fr = les fraises; pr = les prairies.

Fig. 4 : Importance du dommage causé par les limaces à une culture déterminée. Explication dans le texte.

Fig. 5 : Comparaison des pourcentages de dommages forts et très forts d'après les cultures. Signes comme à la figure trois.

Fig. 6 : *Boettgerilla vermiformis* Wiktor (Fam. *Parmacellidae*) (d'après Plate, 1965).



# OBSERVATIONS SUR EUPARYPHA (THEBA) PISANA MULLER EN LUZERNIERES A GRAINES

par E. CAIRASCHI (1) ET V. LECOMTE (2)

## RESUME

Des études en conditions naturelles sur des populations d'*Euparypha (Theba) pisana* Müll montrent la grande mobilité de ces animaux. La vitalité de l'espèce est telle qu'elle tend à supplanter ici les autres *Helicidae* comme elle le fait déjà dans d'autres conditions climatiques. L'importance des populations explique la nécessité des traitements phytosanitaires. L'étalement des sorties dans le temps, le mode de vie de l'escargot et sa biologie réduisent considérablement l'efficacité des traitements. De plus la luzerne, culture installée pour trois années consécutives sur une même parcelle, forme un milieu idéal pour le développement des populations de mollusques.

Les traitements chimiques employés en association avec des méthodes culturales de lutte comme le binage des interlignes, le désherbage et le nettoyage des fossés, en fonction de l'écologie du ravageur permettront un contrôle des populations, leur éradication complète étant difficilement envisageable surtout en début d'exploitation.

## SUMMARY

Studies in the field on populations of *Euparypha (Theba) pisana* (Müll) show the great mobility of these snails. The vitality of this species is so important that it supplants here the other *Helicidae*. The importance of the population explains the necessity of treatments. The length of the period during which the snails are going out from the earth, the way of life of this animal and its biology reduce considerably the efficiency of treatment. And lucern, installed on the same parts for three consecutive years makes an ideal environment for the development of snails populations.

The chemicals associated with other technics as a second ploughing between the lines, the cleaning of the fields and of the ditches, accordingly with ecology of the pest will permit a control of the populations. Eradication is not easy and peculiarly at the beginning of the exploitation.

\* \* \* \*

Du fait de leur abondance en certaines régions, les escargots peuvent jouer, comme les limaces, un rôle nuisible et infliger des pertes importantes à l'économie rurale.

Sous l'impulsion de coopératives agricoles se sont multipliées, il y a quelques années, les parcelles plantées en luzerne à graines dans le sud-ouest de la France. Cette culture permettait de valoriser une sole dans l'assolement tel qu'il était pratiqué.

(1) Dr. de recherches INRA Domaine Saint Paul 84140 Montfavet.

(2) Laboratoire de Zoologie INRA - 16, rue Dufay 76100 Rouen.

Au bout de quelques années les récoltes n'atteignirent pas le niveau espéré et les dirigeants des coopératives demandèrent à l'INRA d'étudier les nombreux problèmes phytosanitaires qui se posaient. Les dégâts et surtout la gêne causés par la présence de populations d'escargots très importantes nous amenèrent à nous associer aux travaux du laboratoire de campagne installé par l'INRA à Castelnaudary (Aude).

## I - OBSERVATIONS SUR LE TERRAIN

Les escargots apparaissent en culture plus tardivement que les limaces, vers la mi-avril, et de ce fait, ne sont pas aussi nuisibles pour les jeunes semis que ces dernières. De plus, au printemps les populations restent concentrées aux abords des lieux d'hivernation : fossés, haies, etc. . . et n'envahissent que peu à peu les surfaces cultivées. C'est ainsi que les plus fortes densités ne se rencontrent, pendant un certain temps, qu'à la périphérie des champs. Lorsque les escargots envahissent ces derniers la luzerne est assez résistante pour supporter les légers dommages causés aux parties aériennes.

Les dégâts d'importance économique n'apparaissent que plus tard, lorsque le champ est complètement envahi par les Mollusques. C'est alors l'époque de la floraison : *Euparypha pisona* est responsable de la destruction d'un certain nombre d'inflorescences d'une part, et d'autre part, il englué dans son mucus des fleurs intactes, ce qui doit gêner l'action des hyménoptères pollinisateurs.

Mais la conséquence la plus importante de la présence de ces populations sur la luzerne se situe au moment de la récolte. Les escargots deviennent alors un véritable fléau, en effet ils sont aspirés par la batteuse avec les graines et forment sur les tamis une bouillie qui bourre la machine. Les graines, engluées, sont perdues. C'est ainsi que sur certaines parcelles les rendements sont devenus insignifiants, de l'ordre de quelques kg/ha. Devant ces difficultés les exploitants ont peu à peu abandonné ce type de culture. Cette année, la surface occupée par la luzerne porte-graines n'est plus que 20 % de celle couverte par cette même culture en 1968 - 1969 - 1970.

En l'absence de références bibliographiques notre action se limita essentiellement au dénombrement des populations et à la compréhension du cycle biologique de l'espèce ainsi qu'à une étude de l'activité motrice des individus. Des travaux de laboratoire vinrent compléter les observations effectuées sur le terrain.

L'estimation des populations ne pose ici aucun problème particulier. En effet ces animaux, de mœurs nocturnes, sont fixés le jour sur le végétal. La luzerne est souvent plantée en lignes et nous prenons comme mesure de l'échantillon l'ensemble des tiges sur une longueur de 0,5 m, ce qui correspond approximativement à une surface d'un quart de mètre carré. Nous dénombrons tous les escargots sur cet échantillon, et nous répétons l'opération sur un certain nombre d'échantillons, ce qui nous donne le niveau de la population en place à un instant donné. La répétition de cette série de comptages dans le temps met en évidence la dynamique de l'infestation.

Ces dénombrements nous permettent aussi de nous rendre compte de l'importance numérique des populations sur le terrain à diverses époques. Elle est de l'ordre de  $3.10^6$  individus/ha.

Nous avons complété ce travail par l'étude des déplacements individuels grâce à la technique du marquage par peinture sur la coquille. Elle confirme la capacité de déplacement des escargots qui atteint plusieurs mètres par nuit. Une route de moyenne importance ne constitue en aucun cas un obstacle à la dispersion de cette espèce. Après orage il n'est pas rare d'observer un grand nombre d'escargots franchissant les chemins. Les raisons de ces "migrations" sont encore inconnues, les deux hermes opposées ne se distinguant en rien à première vue.

De nos observations il résulte que *Euparypha (Theba) pisona* Müll a un cycle qui s'étend sur deux années dans cette région. Les populations ne sont d'ailleurs pas homogènes au moment de la reprise d'activité et nous pouvons mettre en évidence sur le terrain deux classes d'âge privilégiées,

Au laboratoire nous avons montré un élevage expérimental (Lecomte, 1971) afin de préciser la biologie de cette espèce, non sans de nombreuses difficultés. Les problèmes de nutrition notamment ne furent pas entièrement résolus à cette époque. A partir de cet élevage nous avons surtout collecté des données concernant la croissance des animaux.

Il serait maintenant intéressant de comprendre la dynamique des populations en place, afin d'adapter exactement nos moyens de lutte à l'espèce et de répondre aux besoins de l'agriculture.

## II - PROBLEMES SOULEVES PAR LA LUTTE CONTRE LES ESCARGOTS

Dans le programme d'études des causes des chutes de rendement des luzernes-graines dans la région du Lauragais et le sud-ouest de la France les dégâts d'escargots, à côté des méfaits des insectes phytophages, ont particulièrement retenu l'attention.

Les pullulations de mollusques terrestres semblent avoir été observées par les producteurs depuis de nombreuses années mais les causes de cette recrudescence n'apparaissent pas clairement (destruction de prédateurs à partir de traitements généralisés du sol à l'aide d'insecticides organochlorés type H. C.H., maintien de cultures herbacées plus ou moins permanentes, facteurs climatiques favorables, etc...). Quoiqu'il en soit le problème de la protection des luzernes (et autres cultures) contre les escargots s'est posé en plusieurs secteurs et suivant les années dans la plupart des parcelles.

Les moyens dont l'agriculteur dispose étaient ceux déjà utilisés dans la lutte contre les limaces, avec cependant moins de succès étant donné les modes de vie différents des deux groupes de ravageurs. Alors que les dégâts de limaces sont plus précoces et nettement plus localisés, ceux dus aux escargots sont nettement plus tardifs (plusieurs semaines voire des mois après), leur persistance jusqu'à la récolte, compte tenu de leur mobilité et leur plus grande adaptation à une activité aérienne (l'escargot s'installant sur les pousses, les tiges, les hampes florales comme il a été déjà souligné).

Il faut reconnaître d'autre part que la pratique de la lutte contre les escargots était jusqu'à ces dernières années relativement exceptionnelle, faute d'observations de la situation sanitaire au départ de la végétation, alors que la lutte contre les limaces au moyen de granulés à base de métaldéhyde constitue aujourd'hui une pratique traditionnelle dans la protection des cultures fourragères par exemple; son extension aux plantes de grande culture ne soulevait pas de difficultés majeures, sinon sur le plan économique.

Enfin, les échecs enregistrés dans la lutte contre les escargots ont retardé considérablement la mise en place de moyens de lutte efficaces, la rentabilité de telles opérations devant être examinée du point de vue technique et écologique.

## III - MODALITES RELATIVES A LA PROTECTION ENTRE LES ESCARGOTS DANS LES CULTURES DE LUZERNE-GRAINES

Une "lutte rationnelle" contre les escargots dans les cultures de luzernes-graines nécessite une parfaite connaissance du milieu dans lequel vit le ravageur. On sait que la luzerne représente une culture installée dans une parcelle pendant une période au moins égale à trois ans en général. D'autre part, tout au moins en ce qui concerne l'espèce d'escargot : *Euparypha pisona*, la plus fréquemment rencontrée, la durée du cycle évolutif est de deux ans, avec des générations d'âge différent, plus ou moins échelonnées.

Dans ces conditions, il est indispensable de protéger les cultures dès la première année de leur installation en prenant toutes les dispositions utiles notamment la surveillance et le traitement éventuel des bordures des champs surtout si ceux-ci sont entourés de fossés humides, talus etc..., la progression des mollusques à l'intérieur du champ et les pullulations nouvelles qu'ils engendrent rendant très difficiles des interventions ultérieures totalement efficaces.

- Un ensemble de mesures culturales peuvent être recommandées car elles rentrent dans le cadre de la lutte indirecte ou si l'on préfère constitue des opérations qu'il serait souhaitable d'inclure dans un programme de lutte intégrée.

Le binage mécanique des interlignes et le desherbage chimique des parcelles éliminant la végétation adventice telle Laiterons, Fenouil qui constituent des plantes hôtes préférentielles par rapport à la luzerne, contribuent à réduire les populations. Les façons culturales automnales (fin octobre septembre) gênant considérablement l'évolution des pontes sont également recommandables car elles limiteront l'importance des jeunes populations émergeant du sol au printemps suivant.

La propreté des fossés, voire des interventions au lance-flamme contribuent à diminuer l'importance de "l'inoculum printanier" prêt à se disperser dans le champ à proximité, plus ou moins rapprochée.

- Cependant, compte tenu des observations indispensables que tout producteur doit faire au départ de la végétation, il est possible que le niveau des populations actives soit assez élevé pour nécessiter des traitements molluscicides tout au moins en localisation (chemins entourant les champs, bordures, partie de parcelles, etc...).

#### - Les traitements chimiques

Les essais réalisés en plein champ au cours de la période 1968 à 70 ont permis de mettre en comparaison des produits à base de métaldehyde et un certain nombre de spécialités à base de carbamates soit à l'état de granulés de divers calibres soit sous forme de pulvérisations fines ordinaires ou huileuses.

Notre objectif à partir de produits à base de carbamates, dont certains possèdent une activité insecticide non négligeable visait à la fin l'élimination d'un grand nombre de jeunes escargots et la destruction de larves de coléoptères phytophages tels le phytonome (*Hypera postica*) dont les pullulations graves se situent sensiblement au cours des mois de mars et avril, l'intérêt de traitements mixtes en effet toujours recherché par les agriculteurs désireux de limiter les interventions phytosanitaires.

De l'ensemble des résultats obtenus, il convient de retenir :

1 - la bonne efficacité relative des produits granulés à base de métaldehyde et de méthiocarbe à condition d'effectuer les applications par temps humide (forte rosée ou pluie légère) ;

2 - la supériorité des pulvérisations par rapport aux applications de granulés toutes les fois que les traitements sont décidés tardivement, les escargots atteignant rapidement les tiges et organes aériens de la luzerne et s'y fixant, leur activité au niveau du sol n'intervenant qu'en fonction de longues périodes pluvieuses.

3 - l'application de traitements à dose double, par exemple 60 gr/are de méthiocarbe (à partir d'une spécialité à 50 % de matière active) au lieu de 30 gr/are (qui représente la dose normale) n'a pas permis d'augmenter sensiblement les taux de mortalité.

4 - dans tous les cas il est nécessaire de renouveler les traitements au moins deux fois à 10 - 12 jours d'intervalle en moyenne, les résultats d'une seule application ne permettant pas d'obtenir des taux de mortalité suffisants (50 %) compte tenu des sorties et déplacements d'escargots échelonnés et la rémanence limitée des molluscicides utilisés, laquelle peut être augmentée d'une manière appréciable dans le cas de formulations huileuses non phytocides.

#### - Conclusions

La lutte contre les escargots dans les luzernes-graines doit être envisagée dans l'angle écologique et technique.

- réalisée tardivement il sera toujours très difficile d'éliminer les escargots installés sur les organes aériens de la plante ;

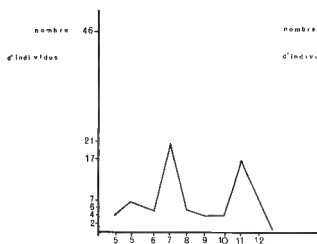
- précocement, l'emploi de granulés de métaldehyde ou de certains carbamates type méthiocarbe peut permettre de limiter les fortes pullulations printanières. L'association des deux matières actives citées pourrait comme nous l'avons suggéré aux fabricants, présenter un intérêt certain aux plans de l'efficacité et de l'économie des traitements. De plus, en réduisant la dose de méthiocarbe on évitera également les méfaits sur les insectes utiles (prédateurs) ;

- les applications devront toujours être effectuées par temps humide, en période d'activité des mollusques ;

- enfin, il conviendra de ne pas négliger les façons culturales, et le nettoyage des bordures et fossés tant au début de la campagne qu'au moment des regains en fin de végétation, le but de toute opération antimollusques étant de maintenir les populations à un niveau raisonnable, leur éradication totale s'avérant dès la première année d'installation de la culture très difficile à obtenir.

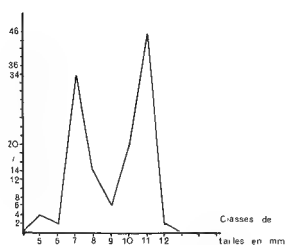
Classes de tailles le 25/4/69

Les Mèges



Classes de tailles le 26/4/69

Bramfem



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CAIRASCHI E. A., 1968 - Considérations sur la faune entomologique et la protection de luzernes-graines dans le Sud-Ouest de la France, *Bull. Techn. d'Infor.* 235 : 957-964. 17 fig. 1 tableau.
- LECOMTE V., 1971 - Essai d'élevage d'*Euparypha (Theba) pisane* Müll. *Heliothis.* (1) : 37-38.
- RITTER M., 1955 - Les Limaces et les escargots. Importance économique et moyens de lutte *Rev. Zool. Agr. et Appl.*, (4-6) : 1-10.





## IMPORTANCE DE LA FASCIIOLE DU BÉTAIL EN FRANCE

par G. JOLIVET (1)

### RÉSUMÉ

*Lymnaea truncatula* est l'hôte intermédiaire de *Fasciola hepatica* trématode dont le parasitisme a une grande importance en élevage. Les caractères des symptômes et des lésions de la maladie, différents chez le mouton et le bœuf, sont rappelés.

Les conséquences économiques (pertes directes liées à la mortalité, pertes à la morbidité) sont plus faciles à apprécier chez les ovins que chez les bovins : dans ce cas la fasciolose est subclinique mais affecte cependant la croissance ou la production laitière. Par ailleurs le bétail constitue une source indirecte d'infestation pour l'homme.

### SUMMARY

*Lymnaea truncatula* is the vector of *Fasciola hepatica*, a trematode which parasitism is very important for livestock. Symptoms and lesions of the disease, different in sheep and cattle, are shown.

Losses, (caused by mortality and high morbidity) are evaluated more easily on sheep than cattle ; in this case the subclinical fasciolosis damages weight gain and milk production. Furthermore cattle is a risk of indirect infestation for men.

\* \* \* \*

Les fascioloses qui sont des helminthoses hépato-biliaires affectant de nombreux mammifères domestiques et sauvages et n'épargnant pas l'homme, sont connues pour être, avec les schistosomes, les plus redoutables des parasitoses transmises par les mollusques.

En France *Lymnaea truncatula*, la limnée tronquée, est le vecteur de *Fasciola hepatica*, la grande douve, seule espèce de Trématodes Fasciolidés responsable de la fasciolose dans notre pays.

L'adaptation de l'helminthe à de nombreuses espèces, la réceptivité particulière à ce parasitisme du bétail et notamment des ovins, la vaste répartition de la maladie qui intéresse la plus grande partie du territoire, surtout les régions à sol ou sous-sol argileux, la fréquence des infestations, font que la fasciolose (qualifiée à tort de distomatose) constitue une des maladies les plus dommageables à l'élevage, en particulier à celui du mouton.

La "maladie de la douve" est connue depuis quelques centaines d'années mais les problèmes posés par ce parasitisme ont pris de l'acuité aujourd'hui que l'on cherche à parfaire la rentabilité des élevages. Une plus grande réceptivité aux helminthoses comme la fasciolose peut en être la conséquence, par suite de l'augmentation de la densité animale, de la plus grande sensibilité aux agressions d'animaux sélectionnés sur des critères de productivité, ou encore de la répugnance, pour des raisons financières, à drainer des pâtures humides propices aux vecteurs de la douve.

(1) Lab. de Parasitologie, Ecole nationale vétérinaire - ALFORT.

L'importance de la fasciolose, qui pourrait mieux la souligner que l'effort consenti ces dernières années par l'industrie pour commercialiser des substances de synthèse permettant de traiter plus efficacement les animaux ou d'éliminer les mollusques hôtes intermédiaires.

Des douvicides, des molluscicides sont apparus récemment sur le marché pour constituer une panoplie de combat efficace. Quand on sait le coût des recherches qui précèdent et permettent la diffusion de ces produits on imagine que le marché offert est à la mesure des dépenses engagées.

Il ne suffit pas de proclamer l'importance de la maladie, parce qu'il semble qu'on la perçoive suffisamment à travers les doléances des éleveurs ou la publicité thérapeutique, encore faut-il tenter de la mesurer. Il est difficile de chiffrer l'incidence d'une maladie, d'exprimer les pertes économiques qui lui sont imputables. Cela est encore possible quand il s'agit d'apprécier les conséquences de la mortalité mais juger des pertes indirectes qu'entraîne une parasitose, comme la diminution du gain de poids, la diminution des productions lactée ou lainière, les incidences sur la fertilité, sur la réceptivité à d'autres maladies, etc..., devient aléatoire.

Mais afin de mieux situer les conséquences pratiques du parasitisme, il est nécessaire de rappeler brièvement les caractères de la maladie chez les ruminants.

## I - PRINCIPALES MANIFESTATIONS ANATOMO-CLINIQUES

Chez le mouton - Hôte préférentiel de la douve, chez qui *Fasciola hepatica* se développe mieux et entraîne les troubles les plus graves, on peut distinguer deux types de manifestations pathologiques en fonction de l'évolution parasitaire.

- La phase introparenchymateuse est une phase de migration. Après ingestion des métacercaires, désenkystement de celles-ci dans l'intestin de l'animal, les *adolescoria*, ayant traversé la paroi du tube digestif, pénètrent par effraction de la capsule de Glisson dans la parenchyme hépatique. Elles y cheminent durant environ six semaines avant de s'installer définitivement dans les canaux biliaires. Les déplacements et le développement des douves immatures déterminent une *hépatite traumatique* qui, si l'infestation a été importante, traduit la forme aiguë ou subaiguë de la fasciolose.

On distingue à la surface du foie des traînées hémorragiques sous-capsulaires et parfois des zones nécrotiques lorsque l'hépatite se complique d'infection par les germes anaérobies. L'évolution mortelle est fréquente. Les animaux, prostrés, anorexiques, meurent au bout de quelques jours, parfois plus brutalement, sans symptômes préliminaires.

- La phase intracaniculaire est une phase d'état - Ayant atteint leur maturité vers la douzième semaine qui suit l'infestation, les douves, fixées à la muqueuse des canaux biliaires, se nourrissent de sang. C'est alors une forme chronique de fasciolose qui se développe et peut évoluer durant plusieurs mois. Le foie parasité est hypertrophié, parfois décoloré par dégénérescence. L'inflammation des canaux biliaires ou cholangite est discrète : si des canaux font quelquefois légèrement saillie à la surface de l'organe, leur paroi est cependant peu épaissie.

L'hématophagie des vers ainsi que des troubles de l'hématopoïèse liés à des perturbations du métabolisme du fer chez les animaux parasités, entraînent de l'anémie, symptôme constant au cours de la fasciolose chronique. En même temps l'amaigrissement et les œdèmes s'accroissent : ils conduisent à cet état de "cachexie aqueuse" qui peut entraîner la mort, notamment en favorisant diverses complications.

Chez le bœuf - La fasciolose a une expression clinique beaucoup plus discrète et sa gravité médicale est sans rapports avec celle de la fasciolose ovine.

La phase de migration n'entraîne que des lésions discrètes et passe inaperçue sur le vivant. Quant à la phase d'état, elle est caractérisée par d'importantes lésions hépato-biliaires (cirrhose, cholangite calcifiante faisant apparaître à la surface de l'organe des canaux blanchâtres très épaissis) qui s'opposent à la pauvreté des manifestations cliniques. En effet, l'anémie est peu marquée ; l'amaigrissement et les œdèmes ne sont appréciables que lors de fortes infestations.

## II - CONSEQUENCES ECONOMIQUES DE LA FASCIIOSE

### A) CHEZ LE MOUTON

Les pertes dues au parasitisme de la grande douve sont variables selon la fréquence et le degré d'infestation. Certaines années sont réputées pour le mauvais souvenir que la fasciolose a laissé aux éleveurs. Il existe des périodes favorables à la multiplication des limnées et, partant, au développement des formes immatures. L'appréciation des dommages est donc essentiellement liée à des considérations épidémiologiques.

**Les pertes directes** sont celles qui découlent de la disparition des animaux. L'année 1969, par exemple, a vu, dans des régions du Centre (Creuse, Vienne, Haute-Vienne) le taux de mortalité atteindre parfois 50 % des effectifs. En moyenne, on estime, lors d'enzooties, à 5 ou 10 % le pourcentage d'ovins qui meurent de fasciolose.

**Les pertes indirectes** sont encore beaucoup plus élevées car les animaux qui ne meurent pas sont devenus, pour un bon nombre, des non-valeurs économiques. A l'abattoir, les animaux très amaigris sont saisis.

Les pertes ne sont pas ressenties comme des catastrophes lorsque le parasitisme demeure discret. Et cependant les formes subcliniques de fasciolose qui accompagnent des infestations assez légères pour le mouton (de l'ordre de quelques dizaines de douves) entraînent un manque à gagner important.

On a calculé, par exemple, (ROSEBY, 1970) que la production lainière diminuait de 20 à 40 %, chez des animaux infestés de *Fasciola*, par rapport à celle de sujets sains, sans qu'il y ait de symptômes apparents de fasciolose.

Il n'est guère possible d'afficher un chiffre de pertes, à quelques dizaines de millions près. D'une façon générale on peut estimer que la fasciolose ovine affecte d'environ 20 % la rentabilité du troupeau.

### B) CHEZ LE BOEUF

Les incidences économiques de la fasciolose sont encore plus difficiles à apprécier que chez le mouton car les pertes directes sont quasi inexistantes et les conséquences cliniques du parasitisme sont discrètes au point que d'aucuns négligent cette helminthose sur le bœuf. La fréquence de l'infestation chez cette espèce est cependant très élevée. On peut en juger par le nombre de foies saisis pour lésions parasitaires à l'abattoir. Des enquêtes récentes menées par PITOIS et Coll. montrent, par exemple, que dans l'Ain, plus de 90 % des foies portent des lésions récentes ou anciennes de fasciolose, que dans le Nord, dans certaines zones à sous-sol argileux, 75 % des foies sont parasités. En Bretagne l'estimation porte aux alentours de 40 %.

On peut raisonnablement estimer que 50 % des bovins de pâture sont, en France, atteints à des degrés variables par *Fasciola hepatica*.

Les pertes sont inhérentes aux saisies de foies : en France en 1969, GIELFRICH estime à 6 millions de francs, dans les seuls départements de l'Ouest, l'incidence de la maladie sur cette commercialisation des foies. Le corollaire en est l'importation de plusieurs millions de tonnes pour couvrir les besoins.

La diminution de la croissance et la baisse de rendement en viande sont élevées de façons diverses. De l'ordre de 3 à 5 %, jusqu'à 10 % pour les génisses : telles seraient approximativement les données le plus couramment admises. Cela entraînerait des pertes, sur l'ensemble du territoire d'un montant de quelques 200 millions de francs annuels (PITOIS).

La diminution de la production laitière serait de 8 à 10 %, soit environ 150 francs par vache et par an.

Les incidences plus lointaines du parasitisme, comme celles qui touchent aux facultés de reproduction, au développement d'infections diverses, ne sont pas chiffrables, mais il n'est pas douteux qu'elles doivent être soulignées.

### III - LE BETAIL SOURCE D'INFESTATION DE L'HOMME

Le tableau situant l'importance de la fasciolose des ruminants ne serait pas complet si l'on omettait de rappeler que la maladie sévit aussi chez l'homme, et qu'elle n'y est pas bénigne. Si les humains ne s'infestent pas directement auprès des ruminants, ceux-ci constituent des réservoirs de parasites qui assurent la dissémination sur les prairies d'éléments susceptibles ultérieurement de constituer les métacercaires infestantes aussi bien pour le bétail que pour l'homme. Les cas humains ont une distribution superposable à celle de l'infestation bovine ou ovine.

Ainsi, en 1966-67, HOCQUET et Coll. dans la région du Choletais, décrivent une endémie fasciolienne sur plus de 150 personnes qui évoluait en corrélation avec une forte enzootie bovine.

La prévention de la fasciolose humaine passe donc en partie par celle de la fasciolose du bétail : c'est une justification supplémentaire de l'intérêt qui s'attache au parasitisme de la grande douve chez le bétail et, à travers lui, à l'étude de l'hôte intermédiaire du trématode, de cette limnée dont la raréfaction sinon la disparition éteindrait rapidement les foyers de fasciolose.

\* \* \* \*

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CHICHE G. - Contribution à l'étude épidémiologique des distomatoses hépatiques animales dans l'Ouest de la France - Thèse Doct. Pharmacie - Rennes - 1964
- EUZEY J. - Les maladies vermineuses des animaux domestiques - T. II - Maladies dues aux plathelminthes - Fasc. 2 - Trématodes (Livre 1) - VIGOT - PARIS - 1971
- EUZEY J., JOLIVET G. - Les maladies parasitaires - in Les maladies animales - Leur incidence sur l'économie agricole - (P. MORNET - ed.) - S. P. E. I. - PARIS - 1972
- GIELFRICH G. - Communication orale - Rennes 1971
- HOCQUET P., FAIVRE C. - La fasciolose humaine à *Fasciola hepatica* - tableau clinique - Approche épidémiologique en Maine et Loire - Cah. Med. Vet. - 1971 - 40 - 359
- LEINATI L. - Ricerche sulla distomatosi nei bovina. I Influenza del trattamento antiparassitaria sulla produzione del latte - Clinica Veterinaria - 1961 - 84 - 425
- PITOIS M. - Résultats d'une enquête sur l'incidence de la fasciolose bovine dans le Nord de la France, d'après les données de l'inspection sanitaire à l'abattoir de BETHUNE - Août 70 - Bull. Soc. Vet. Prat. - 1972 - 56 - 331
- PITOIS M., PERDRIX J., DURET F., CHAPPELLANT P. - Enquête sur l'incidence de la douve bovine grâce aux données de l'inspection sanitaire à l'abattoir - Rev. Med. Vet. - 1970 - 121 - 905
- ROSEBY F. G. - The effect of fasciolosis on the wool production of Merino Sheep - Aust. Vet. J. - 1970 - 46 - 361
- ROSS J. G. - The economics of *Fasciola hepatica* infections in cattle - Br. Vet. J. - 1970 - 126 - XIII
- SINCLAIR K. B. - Some aspects of the pathogenesis and treatment of fascioliasis Vet. Rec. - 1969 - 84 - 544
- TAYLOR E. L. - La fasciolose et la douve du foie - Etudes agricoles de la F. A. O. - n° 64 - 1965
- VAN ROON - Losses caused by fascioliasis - Tijdschr - v - Diergeneesk - 1964 - 89 - 411
- VINK L. - Distomatosis in the Netherlands - Tijdschr - v - Diergeneesk - 1961 - 86 - 1418

ETUDE DE L'EFFET DE QUELQUES FACTEURS CLIMATIQUES  
SUR L'EVOLUTION EPIZOOTIQUE DE FASCIOLA HEPATICA, LEUR UTILISATION  
POUR LA MISE AU POINT D'UNE METHODE DE LA PREVISION  
DE L'INCIDENCE DE LA FASCIULOSE EN FRANCE

par F. LEIMBACHER (1)

RESUME

Reprenant les travaux de C. B. OLLERENSHAW, il nous a semblé intéressant d'en adapter ses vues fondamentales sur l'écologie de *Limnaea truncatula* vecteur de *Fasciola hepatica* au territoire français afin d'établir un pronostic des infestations selon les conditions du milieu et protéger ainsi les troupeaux selon le contexte écologique. Nous avons testé les coefficients mis au point par C. B. OLLERENSHAW pour l'Angleterre dans les conditions de l'élevage français.

SUMMARY

Resuming C. B. OLLERENSHAW's works, it seems interesting to adapt these fundamental views on the ecology of *Limnaea truncatula* at the French territory. The tool is the establishment of a prognosis of infestations according to the environment and the protection of the cattle according to the ecological context. We tested C. B. OLLERENSHAW's coefficients for Great-Britain in the conditions of the French breeding.

\* \* \* \*

Admises de tout temps les influences du climat sur les maladies du cheptel n'ont été classifiées et approfondies que très récemment (C. B. OLLERENSHAW 1959-1966 - GORDON H. McL. 1948 - BORAY J. C. 1963-67 - MEREMINSKII A. I. 1967 - J. EUZEBY 1972).

Bien qu'un travail considérable reste à faire ce sont les travaux sur les relations entre le climat, la dispersion et le développement des Nématodes et Trématodes qui sont les plus avancés. Ces deux groupes de parasites ont en effet à l'état libre des stades évolutifs directement influencés par le climat (œufs dans les fèces, larves immatures).

L'étude de ces relations est un vaste domaine à explorer. Elle peut malgré la complexité des facteurs en cause permettre :

- des découvertes fondamentales ,
- la mise en évidence, empirique, de quelques corrélations dont l'utilisation pour la prévision de l'incidence de ces maladies sera très utile.

(1) Institut Technique Ovins et Caprins - Laboratoire Départemental - 87 170 ISLE.

L'incidence dans ce cas, est l'importance du risque parasitaire de l'année par rapport au risque normal de cette parasitose. En effet : ce qui intéresse les éleveurs ce n'est pas tellement de savoir s'il va ou non y avoir risque de parasitose (en général latent), mais de connaître à l'avance, l'importance de ce risque et son époque d'apparition afin de pouvoir prendre à temps les mesures qui les mettront à l'abri des pertes consécutives à une grave épizootie. Pour mesurer cette incidence les relations entre le climat et les maladies ont été étudiées :

- expérimentalement au laboratoire et à l'extérieur on a observé l'effet de facteurs climatiques individuels sur le cycle biologique d'un parasite ;
- empiriquement en essayant de trouver les corrélations entre l'incidence d'une maladie relevée pendant plusieurs années, avec quelques facteurs climatiques ayant une action probable sur le cycle.

Ces deux méthodes ont été utilisées en GRANDE BRETAGNE pour la mise au point de méthodes de prévision du risque de maladies : la méthode expérimentale pour la Fasciolose et une méthode plus empirique pour le nématodiriose.

Nous nous attacherons à décrire et expliquer la première avant de développer son adaptation en FRANCE.

# I - EFFET DE QUELQUES FACTEURS CLIMATIQUES SUR LE CYCLE EVOLUTIF DE FASCIOLA HEPATICA (d'après C.B. OLLERENSHAW)

## A) LA TEMPERATURE

Il n'y a pas de développement de *Fasciola hepatica* à des températures inférieures à 10° C.

## 1°) DEVELOPPEMENT DES ŒUFS DE GRANDE DOUVE

Dans presque toute l'Europe, les températures sont inférieures à cette valeur de la fin octobre jusqu'en avril-mai : de ce fait, les œufs ne peuvent se développer qu'en été. Ceci a été vérifié : des œufs déposés sur les pâtures de janvier à mai ont tous éclos à la même date à peu près début juin. Cette éclosion continue ensuite tout l'été.

Tableau I - Effet de la température sur le développement de la douve du foie à des températures constantes (C.B. OLLERENSHAW)

Température ° C	Durée d'incubation de l'œuf de douve (en jours)	Durée du cycle chez la limnée (en jours)	Durée du cycle de l'œuf à la métacercaire infestante (en semaines)
10	Pas développement	Pas développement	
15	40	82	17
17,5	27	53	11
20	20	40	8,5
22,5	15	34	7
25	11	25	5
27	10	22	4,5

On constate sur ce tableau qu'en-dessous de 10°, il n'y a pas de développement possible de la grande douve

Dans la nature, cette évolution bien que soumise au même principe, est très variable.

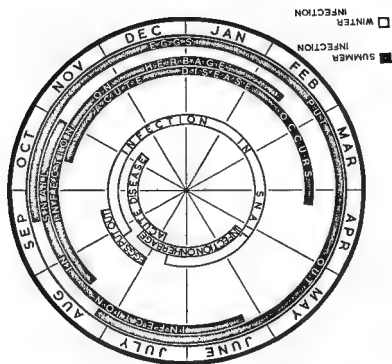


Fig. 4 : ■ Infection d'été  
□ Infection hivernante

Ce calendrier indique la distribution saisonnière des différentes étapes du cycle évolutif de *F. hepatica*, basée sur les variations saisonnières de la température en Grande-Bretagne et en admettant que les conditions optimum d'humidité sont maintenues au cours de l'année. (Reproduit avec la permission du Docteur OLLERENSHAW, 1959).

Tableau II - Les variations de la température moyenne mensuelle  
entre quelques stations du Nord au Sud de la France  
(Source : mémorial de la météorologie nationale)

STATIONS	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre
Londres	9,1	12,4	15,6	17,6	17,2	14,6	10,7
Rouen	9,5	12,9	15,7	17,6	17,2	15	11
Nancy	9,3	13,1	16,4	18,2	17,8	15	9,9
Auxerre	10,5	14	17	19	18,7	16,2	11
Poitiers	10,4	13,7	17,2	19	18,8	16,4	11,8
Limoges	9,7	13	16,5	18,1	17,8	15,4	11
Lyon	11	14,8	18,5	20,7	20,2	17,2	11,8
Agen	11,6	14,8	18,6	20,5	20,5	18,1	13,1
Montpellier	13,9	17	21,1	23,8	23,3	20,1	15,1

## 2°) DEVELOPPEMENT DE FASCIOLA HEPATICA DANS LA LIMNEE

Dans les limnées infestées avant le mois d'août, l'infection se développe jusqu'à maturité et l'infestation des prairies survient la même année.

Dans les limnées infestées après la mi-août, l'infection est toujours immature à la fin du mois d'octobre et passe l'hiver dans la limnée pour continuer son développement au printemps suivant donnant le jour à des cercaires à la fin du printemps et au début de l'été.

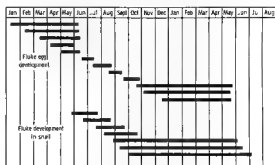


Fig. 1 : Temps nécessaire à l'éclosion des œufs de douve de plusieurs cultures successives et durée relative de l'infection pour la production de cercaires dans des limnées infectées, placées à Weybridge à la température de l'extérieur.

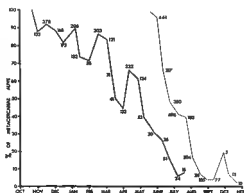


Fig. 2 : Résistance des métacercaires sur l'herbe. Les nombres indiqués sur le graphique indiquent le nombre total de kystes pour chaque échantillon d'herbe.

## 3°) PERSISTANCE DES METACERCAIRES

Observations sur la viabilité des métacercaires de septembre à mai.

Les résultats enregistrés montrent qu'un pourcentage élevé de métacercaires enkystés en septembre reste vivant durant l'hiver : 50 % sont encore vivants en mars. Bien que l'on continue à en trouver d'avril à juillet, ils ne constituent plus un grave danger car ils sont dilués par la pousse de l'herbe.

La mortalité des cercaires déposés sur l'herbe en mai ou juin est beaucoup plus rapide : une mortalité de 50 % a été constatée après trois ou quatre semaines.

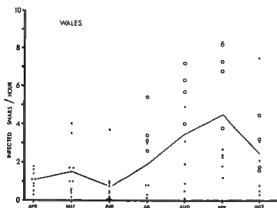


Fig. 3 : Nombre de limnées infectées ramassées en Angleterre et Pays de Galles sur la période de 1960 à 1969 pour une durée de ramassage d'une heure.

Les limnées infectées trouvées en avril, mai et juin constituent l'infection hivernante. Celles qui sont trouvées plus tard, en été, constituent l'infection d'été. Les petits cercles après juillet indiquent le niveau de l'infection quand les pleines mesures de contrôle furent recommandées. Les points indiquent le niveau, les autres années.

En résumé, on constate que la température est l'un des facteurs limitant primordial. Elle détermine dans le temps les limites dans lesquelles le cycle de la grande douve peut s'accomplir mais aussi les époques où certains stades évolutifs essentiels sont atteints, permettant au parasite d'avoir deux modes de cycle évolutifs très distincts :

- un cycle court ou cycle d'été où les œufs de douve tombés sur les prairies passent par toutes les phases évolutives pour devenir une métacercaire infestante la même année ;

- un cycle long où les œufs de douve tombés en fin d'été n'ont que le temps d'éclore et d'infester la limnée tronquée. Ce cycle est aussi appelé transhivernant car la future douve reste à l'intérieur de la limnée tout l'hiver, ne finissant d'accomplir son évolution qu'au cours du printemps suivant lorsque les conditions de température redeviennent favorables.



## B) L'HUMIDITE

L'importance de ce facteur est une évidence pour tous ceux qui ont eu affaire de près ou de loin à *Fasciola hepatica* et toutes les observations concordent pour établir que toutes les graves épidémies du parasite se sont situées après un été humide.

La Fasciologie apparaît dans les régions où les formations géologiques favorisent le maintien de l'humidité sur le sol (mauvais drainage) donc la formation d'habitats à limnée tronquée ; il y a d'autres raisons à cela : les œufs de douve pour se développer doivent être extraits des fèces qui les entourent mais toujours rester recouverts d'un léger film d'eau ; sans cette protection, l'œuf de *Fasciola hepatica* périt. D'autre part, à l'éclosion de l'œuf, le transport du parasite vers son hôte intermédiaire et son passage de l'hôte intermédiaire à l'herbe ne peuvent se faire sans eau.

Le passage du parasite par un hôte intermédiaire (*Lymnaea truncatula*) est l'un des aspects déterminant de son cycle biologique qui ne peut s'accomplir sans la présence de celui-ci.

Ce dernier, gastéropode amphibie à reproduction hermaphrodite se nourrit, grandit, et se reproduit activement lorsque les habitats sont humides. Plus grandes sont les limnées plus elles sont capables de supporter une grande quantité de parasite.

Dans le cas, de mal nutrition (à la suite d'une sécheresse) son activité se ralentit, la limnée estive ou disparaît, lorsque les conditions d'humidité sont favorables, la reproduction des limnées est très rapide ainsi que leur développement ; dans ce cas, si la température ne limite pas leur développement, un grand nombre d'œufs de douve peut éclore et infecter un nombre important de limnées qui auront pu envahir de plus grandes surfaces. Ceci aboutit à une forte infestation des animaux qui n'ont que peu ou pas de résistance au parasite.

## II - QUELQUES PRINCIPES POUR LA MISE AU POINT D'UNE METHODE DE PREVISION DU RISQUE DE FASCILOSE

Décrite dès 1959 par son auteur, c'est-à-dire C. B. OLLERENSHAW que nous devons reconnaître le mérite d'avoir su faire la synthèse entre les données écologiques que nous venons de décrire et les facteurs climatologiques qui les conditionnent et mettre au point dans son pays une méthode pratique de prévision de l'incidence de la fasciologie.

Dans la mise au point d'une méthode de prévision de l'incidence de cette parasitose, il faut se rappeler que pour permettre un bon déroulement du cycle biologique de *Fasciola hepatica*, il est nécessaire d'avoir la conjugaison de deux facteurs climatiques (température et pluviométrie élevées) généralement antagonistes.

En effet, il pleut généralement en hiver et les périodes de sécheresse se rencontrent surtout l'été ; toutefois, il existe des étés humides, ce sont ces étés qui méritent toute notre attention.

Toutes les mesures permettant d'apprécier l'humidité du sol pendant les périodes où la température ne limite pas le développement du parasite, peuvent donner une indication sur l'intensité du risque de cette parasitose.

Bien qu'il y ait d'autres facteurs qui font varier l'humidité des sols, ce sont essentiellement les variations de la pluviométrie et de l'évaporation qui déterminent l'ampleur des modifications de l'hygrométrie mensuelle et annuelle de ceux-ci dans une région donnée.

Les calculs qui permettent de mesurer au cours des mois les variations de ces deux paramètres ou qui auront pour but d'indiquer les variations de l'humidité du sol seront tous très précieux.

Différentes méthodes de mesure de ces paramètres ont été décrites à l'étranger, C. B. OLLERENSHAW (1958) en ANGLETERRE, MEREMINSKII (1967) en RUSSIE, ROSS (1970) en IRLANDE DU NORD, C. B. OLLERENSHAW (1972) aux PAYS BAS, la variété de ces méthodes de mesure adaptées à des pays aux climats aussi différents sont une mise en garde quant au danger qu'il y aurait à opter a priori pour l'un ou l'autre de ces moyens d'appréciation de l'humidité du sol ou du caractère pluvieux de l'année. Par contre, il est possible que l'une ou l'autre de ces mesures soit plus sensible suivant le pays où elle est utilisée.

### III - PREVISION EXPERIMENTALE DE L'INCIDENCE DE LA FASCIULOSE A FASCIOLA HEPATICA EN FRANCE

En 1969 une grave attaque de douve a décimé les troupeaux ovins du LIMOUSIN, du Montmorillonais, du Cher et de nombreux autres départements, les pertes furent très lourdes (avortements, morbidité, saisie des foies, mortalité) malgré des traitements d'ovicides nombreux.

Cette situation a mis en évidence de façon flagrante l'intérêt que pouvait représenter la prévision de telles épidémiologies.

Un programme d'étude fut aussitôt élaboré et mis en place par l'Institut Technique Ovin et Caprin, au Laboratoire Départemental de la Haute-Vienne à LIMOGES, centre d'une grande région d'élevage.

Une enquête épidémiologique grossière effectuée auprès de techniciens de l'élevage de différentes régions devait permettre de faire ressortir que sur les 20 dernières années, les années à forte incidence de fasciolose, 1958 et 1968 avaient été très fréquemment signalées alors que 1951, 1963, 1965 et 1969 ont été moins souvent mentionnés.

Cette enquête mise en parallèle par C. B. OLLERENSHAW avec des calculs d'appréciation de l'humidité du sol pour la même période a montré que les pronostics établis à partir de simples calculs avaient très souvent été vérifiés dans la pratique et que par conséquent, l'utilisation de la méthode anglaise de prévision du risque de fasciolose pouvait être envisagée avec optimisme dans notre pays (C. B. OLLERENSHAW RAMBOUILLET 1970).

Il importait donc, dans un premier temps d'introduire ces nouvelles techniques dans notre pays, de les utiliser et de recueillir suffisamment de renseignements pour pouvoir les juger et déterminer de la nécessité qu'il y aura ou non de les modifier et dans quel sens.

#### Paramètres climatologiques étudiés

L'étude des possibilités de prévision de l'incidence de la fasciolose en France a débuté en 1970 dans le limousin.

Cependant, pour rattraper le retard, nous avons entrepris de calculer tous les paramètres intéressants pour les 20 dernières années ; les données obtenues pour Limoges sont représentées dans les tableaux III, IV, V, VI, VII (15 ans).

**Tableau III.** La pluviométrie mensuelle exprimée en pourcentage de la moyenne à long terme (1931-1960).

Cette appréciation grossière fait ressortir si le mois considéré a été plus pluvieux que la "normale".

Tableau III - La pluviométrie mensuelle exprimée en pourcentage de la moyenne à long terme (1931-1960)

LIMOGES	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre
1957	-	-	-	-	-	-	-
1958	70	151	132	195	97	45	48
1959	195	43	55	35	98	113	67
1960	27	77	82	86	125	160	298
1961	107	83	76	111	77	127	110
1962	124	121	20	105	21	52	65
1963	121	76	208	24	281	91	52
1964	210	98	46	33	67	103	117
1965	107	80	29	73	116	264	22
1966	158	118	140	86	82	24	185
1967	29	145	35	14	46	76	155
1968	135	82	52	131	159	127	55
1969	137	133	126	15	110	175	7
1970	133	51	156	46	77	38	73
1971	92	141	164	140	138	85	41
1972	86	62	93	32	175	34	57

**Tableau IV. Bilan hydrique du mois**

Ce calcul consistant à soustraire à la hauteur d'eau tombée au cours du mois, l'évaporation enregistrée au cours de cette période (valeurs communiquées par la météorologie nationale) indique un excès ou un déficit de la pluviométrie mensuelle.

**Tableau IV - Bilan hydrique du mois**

LIMOGES	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	
1957								
<b>1958</b>	- 33	<b>28</b>	<b>3</b>	<b>61</b>	- 7	- 38	- 11	xxxx
1959	<b>28</b>	- 90	- 118	- 136	- 46	<b>20</b>	- 17	x
1960	- 61	- 56	- 104	-	<b>10</b>	<b>75</b>	-	xx
1961	- 12	- 31	- 41	- 38	- 35	- 13	- 27	x
1962	6	-	- 130	- 51	- 105	<b>67</b>	- 30	x
<b>1963</b>	- 5	- 30	<b>69</b>	-	<b>144</b>	<b>29</b>	<b>1</b>	xxxx
1964	<b>57</b>	- 33	- 96	- 143	- 104	- 11	<b>48</b>	x
1965	<b>28</b>	- 26	- 73	- 56	- 1	<b>156</b>	- 48	x
1966	<b>31</b>	- 11	0	- 29	- 35	- 64	<b>88</b>	x
1967	- 83	- 1	- 92	- 146	- 85	- 7	<b>53</b>	x
<b>1968</b>	- 23	-	-	- 30	<b>46</b>	<b>53</b>	- 16	xx
<b>1969</b>	<b>4</b>	<b>12</b>	<b>7</b>	- 118	- 1	<b>87</b>	- 69	xxxx
1970		- 61	9	- 69	- 29	- 64	-	x
<b>1971</b>	- 45	<b>20</b>	<b>41</b>	- <b>21</b>	<b>21</b>	- 7	- 18	xxx
1972	- 27	- 33	- 35	- 100	<b>44</b>	- 46	- 19	xx

**Tableau V. Nombre de jours de pluie total**

Bien que la pluviométrie et l'évaporation soient les facteurs de variations essentiels de l'humidité du sol et de celle des habitats à limnée, il n'en reste pas moins vrai que la répartition de la pluviométrie dans le temps, conserve une grande importance : en effet, il est bien connu que les pluies violentes, ruissellent beaucoup alors que les pluies persistantes sont beaucoup plus "mouillantes". Un mois avec beaucoup de jours de pluie est généralement classé comme pluvieux, car, même si la pluviométrie reste faible, l'évaporation elle aussi n'est pas bien élevée, le ciel étant fréquemment nuageux.

**Tableau V - Nombre de jours de pluie à Limoges 0,1 mm**

ANNEE	Nombre total de jours de pluie en août-septembre et mai-juin pour l'infection transhivernante	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septemb.	Octobre	Nombre total de jours de pluie de mai à septembre pour l'infection d'été
1957	63	8	16	15	17	11	14	8	73
<b>1958</b>	58	18	16	17	15	17	8	18	<b>73</b>
1959	48	17	12	11	6	11	11	12	51
1960	48	11	12	14	16	18	17	25	77
1961	60	18	11	14	11	10	10	20	56
1962	43	17	18	5	13	9	10	6	55
<b>1963</b>	50	17	13	18	8	23	20	10	<b>82</b>
1964	64	20	12	9	6	10	12	14	49
1965	48	20	12	14	12	14	21	9	73
1966	62	22	10	17	14	9	8	24	58
1967	49	12	19	13	7	10	17	17	66
<b>1968</b>	57	15	18	12	11	19	20	10	<b>80</b>
<b>1969</b>	<b>74</b>	18	18	17	8	15	15	5	<b>73</b>
1970	48	16	6	12	9	12	6	6	45
<b>1971</b>	50	7	15	17	13	16	7	6	68
1972	57	14	18	16	9	18	13	10	74

**Tableau VI.** Comparaison entre la pluviométrie et le nombre de jours de pluie par rapport à la moyenne à long terme.

Les signes "+", "-", "=" indiquent le sens de cette comparaison. Dans les dernières colonnes du tableau ces signes, transformés en chiffres, ont été additionnés. Les valeurs "+" = 1, "-" = 0, 5 "-" = 0 leur ont été attribuées respectivement.

Cette façon d'exprimer les caractéristiques du mois est très intéressante, car les mois où nombre de jours de pluie et pluviométrie sont supérieurs à la moyenne à long terme, sont plus favorables au développement du parasite que les mois où ceci n'est le cas que pour un seul de ces paramètres.

**Tableau VI - Comparaison entre la pluviométrie et le nombre de jours de pluie par rapport à la moyenne à long terme**

LIMOGES	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Mai à Octobre	Avril à Octobre
1957	-	+	+	+	-	+	-		
<b>1958</b>	- +	+ +	+	+	- +	- -	- +	8	9
1959	+ +	- -	- -	- -	- -	+ -	- -	1	3
1960	- -	- -	- -	- +	+ +	+ +	+ +	7	7
1961	+ +	- -	- +	+ -	- -	+ -	+ +	5	7
1962	+ +	+ +	- -	+ +	- -	- -	- -	4	6
<b>1963</b>	+ +	- -	+ +	- +	+ +	- +	- -	6	8
1964	+ +	- -	- -	- -	- -	+ =	+ -	2,5	4,5
1965	+ +	- -	+ +	- -	+ +	+ +	- -	5	7
1966	+ +	+ -	+ +	- -	- -	- -	+ +	5,5	7,5
1967	- -	+ +	- -	- +	- -	- +	+ +	7	7
<b>1968</b>	+ +	- +	- -	+ -	+ +	+ +	- -	6,5	8,5
<b>1969</b>	+ +	+ +	+ +	- -	+ +	+ +	- -	8	10
1970	+ +	- -	+ -	- -	- -	- -	- -	2	4
1971	- -	+ +	+ +	+ +	+ +	- -	- -	8	8
1972	- +	- +	- -	- -	+ +	- +	- -	4,5	5,5

**Tableau VII.** valeur de la formule  $H = \frac{(P - E + 125) N}{25}$

Cette expression permet d'apprécier directement l'état d'humidité des habitats à limnées :

H = humidité des habitats

E = évaporation (en mm)

P = pluviométrie (en mm)

N = nombre de jours de pluie

E = évaporation (en mm)

Cette formule qui tient compte de tous les facteurs ayant une action sur l'humidité des habitats et par la même sur l'incidence du risque, est corrigée en cours d'année par un coefficient T pour tenir compte des variations de la vitesse de développement du parasite suivant la température.

**Tableau VII - Valeur de la formule  $H = \frac{(P - E + 125) N}{25}$**

LIMOGES	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre
1957	-	-	-	-	-	-	-
<b>1958</b>	66	<b>98</b>	<b>87</b>	<b>111</b>	<b>80</b>	27	82
1959	104	16	3	0	34	63	51
1960	28	33	11	-	97	<b>136</b>	<b>180</b>
1961	81	41	47	38	36	44	<b>122</b>
1962	80	-	0	38	7	23	22
<b>1963</b>	<b>81</b>	49	<b>139</b>	4	<b>247</b>	<b>123</b>	50
1964	<b>145</b>	44	10	0	8	54	<b>96</b>
1965	<b>114</b>	47	29	33	69	<b>236</b>	27
1966	<b>137</b>	45	<b>85</b>	53	32	19	<b>204</b>
1967	20	<b>94</b>	17	0	16	80	<b>121</b>
1968	61	-	-	41	<b>129</b>	<b>108</b>	39
<b>1969</b>	<b>92</b>	<b>98</b>	<b>89</b>	3	74	<b>127</b>	11
1970	-	15	65	20	46	8	35
1971	22	<b>87</b>	<b>112</b>	54	<b>93</b>	33	25
1972	55	66	57	25	<b>121</b>	41	42

En Angleterre, il a été constaté que les mois à  $MT = 100$  les habitats sont humides tout le mois ; il a donc été décidé que toutes les valeurs de  $M$  dépassant 100 seraient ramenées à 100 :

Le développement du parasite étant à peu près 2 fois moins rapide en mai et octobre, cette valeur (100) doit donc être divisée par deux pour ces deux mois ( $T = 1/2$ ).

#### Commentaires sur les tableaux récapitulatifs des différentes expressions climatiques

Pour analyser ces tableaux il est bon de se souvenir qu'il n'y a pas de développement possible pour *Fasciola hepatica* à des températures inférieures à  $10^{\circ}C$ . D'autre part, en France, la durée minimum de cycle dans le milieu extérieur de la douve est de l'ordre de 8 semaines.

Ces deux constatations nous font conclure que les mois sur lesquels doivent porter nos observations sont ceux où la température moyenne journalière est supérieure à  $10^{\circ}C$ , soit d'avril à octobre inclus. Chaque fois qu'il apparaîtra parmi ces mois, une succession de mois plus humides que la normale, l'incidence de la fasciolose pourra être élevée.

En raison des variations de la vitesse de développement de la douve en fonction des températures des séquences de cette nature, seront dangereuses dès qu'elles dépasseront 3 mois pour le cycle transhivernal, et deux mois pour le cycle d'été.

L'incidence de la maladie sera d'autant plus grande que ces séquences seront plus longues.

A partir des remarques que nous venons de faire, nous constatons en examinant le tableau III que ces successions se sont produites en 1958, 1965/66 (infection transhivernante) 1968 (juillet-août-septembre) et 1968/69 (août-septembre-avril-mai-juin) et à nouveau en 1971. Le bon sens nous ferait aussi prendre en considération l'année 1963 où 2 mois, bien que à cheval sur un autre, ont reçu chacun des hauteurs d'eau double à la pluviométrie normale. Ceci permet de penser que l'évaporation n'aura pas pu effacer cet important excès assez rapidement.

Nous voyons que sur cette base extrêmement grossière nous avons pu mettre en évidence au cours de ces 15 dernières années 6 occasions où l'incidence de la fasciolose aurait pu être importante.

L'examen du tableau suivant - tableau IV - nous confirme les années 1958 et 1963 ainsi que 1968 et 1969. Nous pouvons aussi constater qu'en 1965/66 en fait, seul le mois de septembre a un bilan hydrique positif et ceci après une importante sécheresse estivale qui n'aura pas été favorable à la reproduction des limnées ni à l'éclosion de nombreux œufs de douve, de plus, au printemps suivant seul avril dispose d'un excès d'eau.

Au cours de 1971, faisant suite à une année très sèche la sécheresse en juillet est extrêmement bien venue pour interrompre une importante séquence de 4 mois ayant un bilan hydrique positif.

Cet examen nous ramène à 4 années (1958, 1963, 1968, 1969) où le cycle de la grande douve aura pu s'accomplir aisément. Ce sont ces années qui nous ont été signalées le plus fréquemment, lors de notre enquête épidémiologique, comme étant des années à douve.

Le total du nombre de jours de pluie est une autre façon de mettre en évidence les années les plus humides où le risque de fasciolose pourra être plus important que la "normale" ; en effet, nous additionnerons les jours de pluie de mai à septembre inclus pour l'infection d'été (qui donnera la fasciolose d'hiver) et les jours de pluie d'août à septembre plus ceux de mai-juin pour l'infection transhivernante (provoquant la fasciolose d'été). Chaque fois que ces totaux sont très élevés, il y a une forte incidence de fasciolose cette année là :

$T = 82$  en 1963

80 en 1968

74 en 1968/69 transhivernante et à nouveau 73 en 1969.

Par contre en 1958 ce total n'atteint que 73 qui bien que supérieur à beaucoup d'autres totaux se retrouve à d'autres occasions.

On comprend aisément pourquoi, nombre de jours de pluie important ne veut pas dire chutes de pluie importantes. Ce seul critère nous ayant toutefois au minimum indiqué 3 fois sur 4 les risques d'incidence supérieure à la "normale", nous constatons une fois de plus combien les corrélations sont étroites et l'importance de ces critères s'impose.

L'expression des caractéristiques climatiques contenues dans le tableau VI permet de corriger l'un par l'autre deux paramètres autrement trop grossiers : la pluviométrie exprimée en pourcentage de la moyenne à long terme et le nombre de jours de pluie, comparés à leur moyenne à long terme. Si l'un de ces facteurs est supérieur (+) égal (=) ou inférieur (-) à la normale nous le remplaçons dans notre tableau par le signe correspondant à la comparaison.

Ces signes sont additionnés après avoir été transformés en valeur :

- + égal 1
- = égal 0,5
- égal 0

Les totaux sont exprimés dans les 2 dernières colonnes du tableau VI, dans la première colonne nous additionnons les mois de mai à octobre, dans la deuxième, les mois d'avril à octobre inclus.

Un premier examen de ce tableau nous montre que le mois d'avril est fréquemment plus pluvieux que la normale, aussi, la pluviométrie de ce mois sera-t-elle moins déterminante pour agir sur les variations de l'incidence de la fasciolose.

Nous en tenons compte cependant en raison des températures moyennes mensuelles relativement plus élevées dans notre pays qu'en GRANDE-BRETAGNE, ceci nous fait considérer que le mois d'avril, sans être déterminant, constitue un précédent important pour les deux mois suivants lorsque ceux-ci sont plus pluvieux que la moyenne à long terme.

Sur ces bases nous constatons que les années où ces valeurs sont les plus élevées pour les totaux d'avril à octobre : 1958, 1963, 1968, 1969 et 1971, sont précisément les années où l'incidence a été la plus forte dans cette région.

Le dernier tableau contient les valeurs obtenues grâce à une formule expérimentale intégrant les différents paramètres ayant une action directe sur l'état d'humidité des habitats.

Bien que reprenant intégralement la formule :

$$MT = (R - P + 5) N$$

décrite par C. B. OLLERENSHAW et L. P. SMITH notre expression n'en reste pas moins expérimentale car l'une des composantes n'est pas la même (évaporation riche au lieu d'évapotranspiration potentielle Penman) de plus, les valeurs de Mt (Ht) ne sont pas définies pour notre pays où les températures moyennes et l'évaporation mensuelle sont plus élevées.

Nous commenterons donc ce dernier tableau avec un minimum de réserve en attendant un complément d'information.

Notre première constatation est, que les mois où la valeur de H dépasse de 100 sont peu nombreux et que sous cet angle nous n'aurions signalés aux éleveurs les années à forte incidence, qu'à deux occasions 1963 et 1968/69 où nous enregistrons une succession de mois "humides" suffisante.

En effet, en 1963 une succession de 4 mois ayant une valeur de H importante est interrompue par un mois de juillet sec ; on peut penser que cette sécheresse n'aura pas suffi à assécher tous les habitats et que les limnées auront pu se maintenir jusqu'en août-septembre où les conditions météorologiques leur auront à nouveau été extrêmement favorables.

En 1968/69, août-septembre de 1968 auront été favorables à la multiplication et l'infection des limnées, cette période est suivie au printemps suivant par une succession de 3 mois où la valeur de H sans être égale à 100 n'en est pas très éloignée (92, 98, 89) pour avril, mai, juin 1969, cette

situation aura donc été très favorable à l'accomplissement d'un cycle transhivernant de la fasciolose ce qui a été bien vérifié dans la pratique puisque les pertes consécutives à cette grave épidémie sont apparues dès le mois de juillet 1969.

Cette nouvelle approche est extrêmement intéressante car elle permet de concevoir que pour la FRANCE la valeur de H pourrait être légèrement inférieure à 100.

Prenons pour vérifier cette hypothèse, en plus des valeurs de H égales ou supérieures à 100, toutes les autres valeurs ne s'en éloignant pas trop et arrêtons-nous à  $H = 80$  comme valeur la plus faible. Nous pouvons constater que sans changer le fond de nos remarques faites à partir de l'examen avec  $H = 100$ , l'analyse de la situation avec  $H = 80$  apparaît comme bien plus précise, en effet, cette nouvelle valeur nous permet de confirmer les années 1963 et 1968/69 et d'y ajouter 1958 et 1971 qui n'avaient pas apparues précédemment.

Les différents paramètres étudiés nous ont fait ressortir les années 1958, 1963, 1968/69 comme années à forte incidence de fasciolose.

Cette analyse rétrospective avait été vérifiée très largement au grand deuil des éleveurs puisque ces années avaient été caractérisées par de très lourdes pertes dues à cette maladie.

L'examen séparé de quelques-uns de ces paramètres a aussi porté à notre attention les années 1965/66 et 1971 : l'incidence au cours de ces deux années sera beaucoup plus faible après l'examen des autres paramètres. En effet, pour 1965/66 l'évaporation sera supérieure à la pluviométrie pour tous les mois à l'exception de 2 et de ce fait la sécheresse aura fortement entravé la reproduction des limnées et l'éclosion des œufs de douve, pour 1971 la situation semble beaucoup plus critique puisque seul le mois de juillet interrompt par sa sécheresse un cycle de 4 mois consécutifs avec un bilan hydrique positif, pourtant cette situation aura été améliorée si l'on tient compte du fait que l'année 1970 avait été très sèche et que les éleveurs très touchés par la distomatose en 1969 continuèrent à traiter leur cheptel plus fréquemment qu'à l'ordinaire.

Pour nous résumer nous constatons que chacun de ces paramètres apporte une information très utile pour la prévision de l'incidence de la fasciolose et insisterons sur leur caractère de complémentarité, nous signalerons toutefois que malgré les bons résultats obtenus par cette technique de prévision celle-ci serait incomplète si elle n'était pas accompagnée :

- d'une étude écologique portant sur l'évolution des populations de limnées (nombre de limnées à l'heure par mois) ;
- d'une étude épidémiologique du parasite en quantité (taux d'infection des limnées par mois) et évolution dans le temps (infection à maturité ou non).

Ces données enregistrées depuis mai 1970 sont présentées figures 5 (a et b).

Bien que nos enregistrements ne nous indiquent pas quelles seraient les valeurs atteintes lors d'une grave épidémie, ceux-ci ont le mérite de mettre en évidence la rapidité avec laquelle se font et se défont les populations de limnées en fonction du climat et parallèlement, la rapide variation du nombre de limnées infestées (année 1971).

Sur le plan variation de l'épidémiologie dans le temps, nous constatons que le cycle transhivernant arrive à maturité en avril-mai (températures plus élevées en France).

En 1971 année à températures élevées, une grande quantité d'infections de limnées avaient atteint le stade maturité en juillet alors qu'en 1972 année très froide, (température moyenne journalière inférieure de  $2^{\circ}$  à la moyenne à long terme pour tous les mois de l'été), les premières infections à maturité n'ont apparues qu'en août ; ceci est très intéressant car nous pouvons de ce fait distinguer deux cycles d'été de la fasciolose :

- un cycle d'été précoce où les limnées infectées au début du printemps libèrent des cercaires dès juillet ;
- un cycle d'été tardif où les limnées infectées au printemps début de l'été ne libèrent des cercaires qu'à la fin de l'été, début de l'automne de la même année.

## EN CONCLUSION

Nous pouvons dire que l'examen successif de ces différents paramètres nous aura permis de faire ressortir avec un maximum de nuances l'influence des facteurs climatologiques ayant une action sur le cycle épidémiologique de *F. hepatica* et démontre les possibilités qu'il y a de prévoir l'incidence du risque de fasciolose en France.

Nos travaux de prévision ont été étendus à d'autres régions :

(Calvados, Orne en 1971)

Meurthe et Moselle, Moselle, Meuse, Vosges (1971)

et depuis cette année dans les Pyrénées Atlantiques, l'Ain, l'Indre et la Manche.

Toutes les données recueillies à ce jour dans ces régions vont dans le sens de cet exposé. Nous ne les avons pas présentées nos références nous paraissant encore incomplètes.

## REMERCIEMENTS

L'auteur exprime ces vifs remerciements aux Docteurs C.B. OLLERENSHAW, CAILLER, J.C. BORAY et leurs collaborateurs pour leurs excellents conseils dispensés au cours de sa formation.

Ses remerciements s'adressent aussi aux Directeurs de l'ITOVIC, à ses collègues, au Docteur P. MORAILLON, sans qui cette étude n'aurait pu être entreprise.

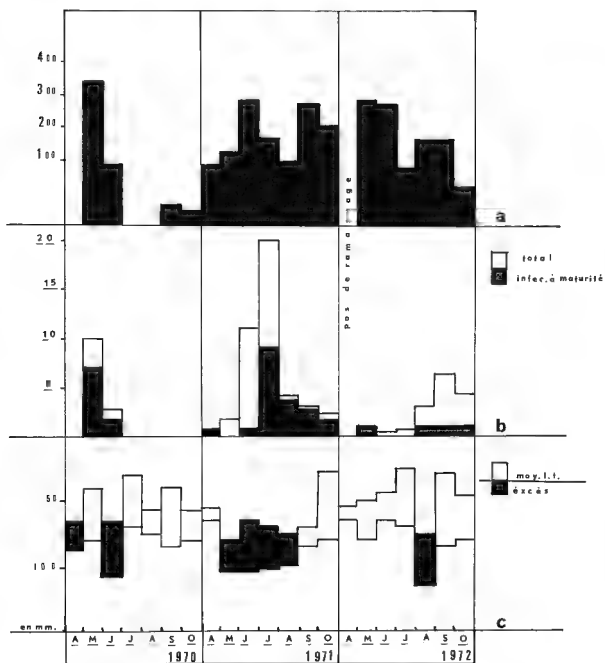
L'auteur remercie aussi tout particulièrement le Docteur J. A. NICOLAS pour son aide dans la rédaction de cet article et la Société Française de Malacologie pour son invitation à présenter cet exposé.

\* \* \* \*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BORAY J.C. (1969) - Experimental Fasciolosis in Australia. *Adv. in Parasitology*, Vol. 7.
- EUZEBY (1972 - Climatologie et Helminthoses - *Revue Med. Vét.*, 123, 5, 637.
- GORDON H. Mch (1948) - *Austr. Vet. J.*, 24, 17.
- LEIMBACHER F. (1971) - *Revue mensuelle de l'élevage ovin* - Patre N° 186, 9-15.
- LEIMBACHER F., RONDELAUD G., MOREL C. (1972) - *Cahier de l'élevage 402* - SPEO - Patre 149 rue de Bercy - PARIS 12ème.
- MEKEMINSKII A.I. (1967) - *Veterinary Moscow*, N° 5.
- OLLERENSHAW C.B., Rowlands W.T. (1959) - *Vet. Rec.*, 71, 591-598.
- OLLERENSHAW C.B. - *Vét. Rec.*, 71, 957-963.
- OLLERENSHAW C.B., SMITH L.P. (1969) - *Adv. in Parasit.*, Ed. B. Dawes 7, 283-323, Academic Press, London.
- OLLERENSHAW C.B. (1970) - Compte rendu du colloque ITOVIC-ITEB-NOE sur "la prévision des maladies" à l'Institut NOE-RAMBOUILLET.
- OLLERENSHAW C.B. (1971) - *Cahier de Med. Vet.* 40, 303-319.
- ROWCLIFFE S.A., OLLERENSHAW C.B. (1960) - *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 54, 172-181.





nombre de limnées tronquées par heure

nombre de limnées t. infectées par heure

Pluviométrie à limoges comp. à moy. à long terme



## LA FASCIULOSE OVINE ET BOVINE EN GRANDE BRETAGNE ET EN IRLANDE

par M. PITOIS

Dr. Vétérinaire - Agrishell - Lyon

Les conditions climatiques régnant dans les Iles Britanniques sont favorables à l'élevage de plein air. Près de 20 millions de bovins et 30 millions de moutons peuplent ces deux îles. Cependant la pluviométrie favorable à la croissance de l'herbe est également très propice à la pullulation des gastéropodes : limaces, parasites des cultures, et limnées, hôtes intermédiaires de la fasciolose.

Dans ce dernier cas l'importance de la transmission de *Fasciola hepatica* revêt l'aspect d'une catastrophe nationale chaque fois que le printemps pluvieux est suivi d'une hygrométrie importante en été.

Les auteurs Anglais indiquent que plus de 75 % des foies de bovins et de moutons abattus dans les Iles Britanniques hébergent des douves. Pour lutter contre cette perte économique importante, subie par les éleveurs, différentes mesures ont été envisagées par les Services du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche.

Une équipe dirigée par le Dr OLLERENSHAW (1967) étudie depuis 10 ans les facteurs climatiques qui permettent de prévoir, au cours du printemps, l'évolution des populations de limnées dans les différents biotopes des Iles Britanniques. Au cours des dernières années les informations disponibles à partir de juin ont permis de diffuser, auprès des vétérinaires et des éleveurs, des avertissements agricoles les informant de l'urgence des traitements curatifs contre cette parasitose.

D'autre part, une équipe groupant des chercheurs de l'industrie et des parasitologues de l'Université a étudié depuis 1967 la possibilité d'utiliser un molluscicide spécifique contre les limnées. Dans un premier temps, cette équipe a pu mettre en évidence à BALLINAMORE (Crossland et Benett, 1967) l'action du trifenmorph sur les populations de limnées émergeant au printemps, et pour la première fois ils ont signalé que la destruction de ces mollusques entraînait une réduction significative du nombre de *Fasciola hepatica* chez les moutons pâturant sur les zones ainsi traitées.

Depuis, ces expériences ont été reprises et confirmées par ROSS (1970) en Irlande du Nord et URGUHARDT (1972) et ses collaborateurs en Ecosse. Plus récemment, des essais ont été entrepris dans différentes régions pour mesurer l'avantage économique qui peut découler de cette lutte chimique dans le cadre de l'élevage des moutons et des bovins de plein air.

En parallèle, des essais ont été mis en place à Dublin pour mesurer les pertes de poids et de production laitière chez les animaux infestés artificiellement à l'aide de métacercaires de *Fasciola hepatica*.

Les estimations les plus récentes chiffrent à plus de 1 milliard et demi de nouveaux francs les pertes économiques causées en Grande Bretagne par la pullulation des limnées, hôtes intermédiaires de *Fasciola hepatica*.

Il est encourageant de voir que nos collègues britanniques envisagent la prévention de cette parasitose de façon intégrée. En effet, la lutte est liée à la connaissance des conditions météorologiques, des variations écologiques selon les différentes régions, et l'emploi judicieux des techniques culturales et des traitements chimiques.

On peut espérer que les connaissances malacologiques disponibles seront utilisées pour lutter contre ce gastéropode si préjudiciable à l'élevage anglais, et qu'enfin ces méthodes franchiront un jour la Manche pour être imitées par les Français.

\* \* \* \*

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARMOUR J., URQUHART G.M., DOYLE J.J., 1970 - The use of a molluscicide (N - Trityl Morpholine) in the control of ovine fascioliasis. In : **The control of fascioliasis** 23-25 feb. 1970, London. Section I.
- CROSSLAND N.O., BENNETT M.S., 1967 - A new molluscicide (Frescon) for the control of *Lymnaea truncatula* - II Preliminary field trials. In : **11nd Int. Liverfluke Colloquium**, Wageningen, 2-6 oct. 1967, 34-35.
- MORPHY M.J., ROSS J.G., 1970 - An evaluation of techniques for sampling and estimating snail populations. In : **The control of fascioliasis**, 23-25 feb. 1970, London. Section C.
- OLLERENSHAW C.B., 1967 - Some observations on the epidemiology and control of Fascioliasis in Wales. In : **11nd Int. Liverfluke Colloquium**, Wageningen, 2-6 oct. 1967, 34-35.

## ROLE DES MOLLUSQUES DANS LA TRANSMISSION DES HELMINTHIASES EN DOMAINE CONTINENTAL

par C. CUMBES (1) et B. CENS (2)

### RÉSUMÉ

Comparaison du rôle des Mollusques dans le cycle biologique des Trématodes, des Cestodes et des Nématodes.

### SUMMARY

Comparaison of the part played by the Molluscs in the life-cycle of Trematoda, Cestoda and Nematoda.

\* \* \* \*

Les Mollusques peuvent jouer un rôle dans les processus de transmission de trois groupes d'Helminthes : Trématodes, Cestodes et Nématodes.

On considère que les **Trématodes** sont des Plathelminthes initialement phorétiques ou parasites des Mollusques, dont l'adulte s'est adapté par la suite à des Vertébrés. Leur cycle biologique comporte donc **obligatoirement** au moins un Mollusque (où pénètre la larve issue de l'œuf et où se produit un phénomène de multiplication) et un Vertébré (où l'adulte atteint sa maturité et produit les œufs) (3). Mais il s'intercale souvent, entre le Mollusque et le Vertébré, un organisme chargé de disséminer le parasite et qui est consommé par l'hôte définitif ; cet organisme peut être de nature très variable suivant les Trématodes et il peut s'agir de Mollusques (4).

Dans le cas des **Cestodes**, les Mollusques ne sont que des agents de la dissémination pour certaines espèces, la multiplication larvaire est chez ces parasites un phénomène exceptionnel que l'on observe uniquement chez des intermédiaires autres que les Mollusques.

Chez les **Nématodes**, quelques espèces développent leurs premiers stades larvaires chez des Mollusques qui participent ainsi à la dissémination du parasite, bien entendu, il n'existe jamais de multiplication larvaire.

### I - LE MOLLUSQUE LIEU DE LA MULTIPLICATION DES STADES LARVAIRES

Les différents ordres de Mollusques n'ont pas la même valeur pour abriter la phase initiale du cycle des Trématodes : seuls les Gastéropodes, les Lamellibranches et les Scaphopodes peuvent jouer ce rôle. D'autre part, un Trématode donné n'effectue son développement que dans une espèce de mollusque ou un petit groupe d'espèces taxonomiquement voisines. Dans le mollusque, c'est le plus souvent l'hépatopancréas ou la glande génitale qui fournissent l'énergie nécessaire à la multiplication du Trématode.

(1) Département de Biologie Animale, Centre Universitaire de Perpignan.

(2) Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.

(3) Les exceptions à ce schéma fondamental sont rares : d'une part quelques Trématodes ont remplacé les Mollusques par des Annelides, d'autre part, on connaît au moins un cas où le cycle tout entier s'accomplit chez le Mollusque, probablement à la suite d'une simplification secondaire.

(4) Nous laissons ici de côté l'éventualité d'un organisme supplémentaire intercalé dans le cycle (hôte d'attente des cycles à quatre hôtes), cet organisme n'est jamais un Mollusque.

Le cycle le plus naturel des Trématodes s'accomplit en milieu aquatique, vu la présence de stades libres nageants ; ils utilisent donc avant tout des mollusques aquatiques. Cependant le milieu terrestre a été conquis par différents artifices (notamment la réduction des phases de vie libre) de sorte qu'en domaine continental, les cycles utilisent non seulement les mollusques dulcicoles, mais aussi des espèces franchement terrestres.

Par leur aptitude à permettre la pénétration des miracidiums de plusieurs espèces de Trématodes, certains mollusques peuvent être le siège d'une compétition interspécifique entre ces Trématodes, soit indirecte (régression d'un Trématode en présence de l'autre) soit directe (consommation des sporocystes d'un Trématode par les rédies d'un autre Trématode). Ces phénomènes ouvrent peut être la voie à une lutte biologique d'un type original. On imagine ce qu'apporterait la "mise au point" d'un Trématode adapté à *Galba truncatula* et antagoniste des stades larvaires de *Fasciola hepatica*. Le bilan des recherches en ce domaine (LIM et HEYNEMAN, 1972) fait apparaître des possibilités de réussite dans la lutte anti-bilharzienne.

## II - LE MOLLUSQUE AGENT D'UNE DISSEMINATION

### A) TREMATODES

Après sa multiplication larvaire, le Trématode utilise différents moyens pour rejoindre le Vertébré. Le cas le plus rare est celui d'une pénétration directe (fig. 1 A) (observée chez les *Schistosoma* des Mammifères, les *Sanguincola* des Poissons par exemple), généralement le Vertébré s'infeste en consommant un organisme porteur de métacercaires infestantes (Combes, 1972), comme nous l'avons dit, cet organisme peut être un mollusque (fig. 1 B).

En milieu terrestre, l'infestation directe n'existe jamais, il y a toujours consommation d'un vecteur. Celui-ci peut être varié (fig. 2) :

a) le mollusque terrestre qui a servi à la multiplication des stades larvaires peut abriter les agents infestants (métacercaires) enkystés sur place. On peut citer comme exemple *Urotocus tholonetensis*, parasite des Pies (Timon-David, 1965) ;

b) les stades larvaires libérés par le mollusque s'enkystent chez un Arthropode vecteur. C'est le cas de *Dicrocoeloides petiolatum*, parasite de divers Oiseaux (Timon-David, 1960) ;

c) le rôle joué dans le cas précédent par un Arthropode est tenu par un mollusque terrestre. Ce cycle s'observe par exemple chez *Dollfusinus frontalis*, parasite du hérisson (Timon-David, 1965). Ce deuxième mollusque agent de dissémination, peut appartenir à une espèce différente du premier (lieu de multiplication), comme c'est le cas chez *D. frontalis*, ou bien, pour d'autres cycles, à la même espèce.

Le schéma montre qu'un même mollusque (dans les exemples choisis, *Helicella arenosa*) est utilisé d'une manière variée par les différents Trématodes qu'il abrite.

Si on compare un cycle du type *Urotocus* avec un cycle du type *Dollfusinus*, on constate que les caractéristiques de l'infestation réalisée ne sont pas les mêmes (fig. 3) :

a) dans le cas d'*Urotocus*, les nombreux germes infestants (sous la forme de métacercaires) restent sur place et le taux de Mollusques vecteurs est identique au taux de mollusques ayant consommé des miracidiums ; on a quelques individus très hautement infestants ;

b) dans le cas de *Dollfusinus*, les germes se répartissent dans la population des mollusques et le taux de mollusques vecteurs est largement supérieur au taux de mollusques ayant consommé des miracidiums ; on a de nombreux individus peu infestants.

En milieu aquatique, on peut observer les même type de cycles, plus l'infestation directe du type *Schistosoma* ou *Sanguincola*.

Les cycles où la cercaire ne sort pas du mollusque et s'enkyste sur place sont cependant exceptionnels en milieu aquatique, ce qui tend à démontrer que la dissémination par un intermédiaire est un facteur favorable, donc sélectionné. En milieu terrestre, les aléas de la transmission entre l'organisme expliquent l'intérêt des cycles du type *Urotocus*, sans intermédiaire.

## B) CESTODES

Le cas des Cestodes, que ce soit en milieu aquatique ou en milieu terrestre est, comme nous l'avons souligné, infiniment plus simple : dans beaucoup de cas l'intermédiaire (ou les intermédiaires successifs) du cycle ne donnent pas lieu à une multiplication larvaire, encore que l'anabolisme soit actif. En tous cas, une telle multiplication n'est pas connue chez les mollusques. Ceux-ci jouent donc seulement un rôle dans la croissance larvaire et la dissémination des parasites. Nous ajouterons que les mollusques ne sont pas parmi les vecteurs les plus fréquents : en milieu continental, divers Pulmonés jouent un rôle dans les cycles de Cestodes de petits Mammifères, notamment les Musaraignes.

## C) NEMATODES

Les larves de nombreux Nématodes Métastrongylidés, après pénétration active dans la sole pédieuse du mollusque, subissent en général deux mues qui les amènent au stade infestant, sans que l'hôte paraisse fournir d'éléments métaboliques (les larves vivent sur leurs réserves). Le mollusque, jouant un rôle strict d'abri et de dissémination, est peu spécifique.

## III - RÔLE DES MOLLUSQUES DANS LES CYCLES DES PARASITES DE L'HOMME ET DES ANIMAUX DOMESTIQUES

### A) HOMME

L'Homme, habitant des milieux hétérogènes et ayant des habitudes trophiques variées, reçoit ses Helminthes de diverses façons :

a) sans intermédiaire :

ex. : *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, *S. intercalatum*, *S. japonicum* (Trématodes) agents respectifs des bilharzioses intestinale, vésicale, rectale et artério-veineuse.

*Ancylostoma duodenale*, *Enterobius vermicularis*, *Trichiuris trichiuris*, *Ascaris lumbricoides* (Nématodes) parasites de l'intestin.

b) par un intermédiaire de type végétal :

ex. : *Fasciola hepatica*, *Fasciolopsis buski* (Trématodes) agents d'une distomatose hépato-biliaire et d'une distomatose intestinale.

c) par un intermédiaire de type animal (passif, c'est-à-dire consommé, ou actif, selon les cas) :

ex. : *Paragonimus westermani* (Trématode), agent de la distomatose pulmonaire, transmis par un Crustacé d'eau douce. *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis felinus*, *Metagonimus yokogawai*, *Heterophyes heterophyes* (Trématodes) agents de diverses distomatoses du système digestif, transmis par des Poissons. *Taenia solium*, *Taenia saginata* (Cestodes) parasites du tube digestif, transmis par la chair de Vertébrés. *Wuchereria bancrofti*, *Onchocerca volvulus* (Nématodes) agents respectifs de l'éléphantiasis et de l'onchocercose, transmis activement par des Diptères piqueurs.

Dans les cycles de ces Helminthes, le mollusque n'est présent que chez les Trématodes. Il a d'ailleurs pour seul rôle d'abriter les stades larvaires et non de servir de vecteur consommable pour l'Homme : seules quelques espèces d'importance médicale secondaire (par exemple dans le genre *Echinostomum*) sont transmises à l'Homme par des Mollusques et de façon qui paraît accidentelle.

A notre connaissance, il n'existe pas de Cestode qui soit transmis à l'Homme par des mollusques en milieu continental.

En ce qui concerne les Nématodes, aucune espèce transmise par des mollusques n'est parasite habituel de l'Homme : cependant il convient de signaler que deux Métastrongylidés : *Angiostrongylus cantonensis* et *Angiostrongylus costaricensis*, parasites normaux de Rongeurs, évoluant par l'intermédiaire d'un Mollusque, peuvent être rencontrés accidentellement chez l'Homme.

Le premier est l'agent causal de méningites à éosinophiles en région tropicale ; le second occasionne des appendicites aiguës chez les enfants à Costa-Rica.

## B) ANIMAUX DOMESTIQUES

Chez les animaux domestiques d'intérêt, économique et herbivores (donc à régime plus spécialisé que l'Homme) la contamination peut être directe (*Schistosoma*) ou due à un intermédiaire végétal (*Fasciola*, *Paramphistomum*) ; parfois on observe un intermédiaire animal qui est "accidentel" dans le régime : cas de *Dicrocoelium lanceolatum*, transmis aux moutons par des Fourmis. Le rôle des Mollusques Amphibies (par ex. chez *Fasciola*) ou franchement terrestres (par ex. chez *Dicrocoelium*) reste capital au niveau de la multiplication larvaire. Chez les animaux domestiques, la contamination par ingestion de Mollusques est connue : on l'observe notamment chez les Trématodes d'Oiseaux (*Echinostomum*) et chez de nombreux Nématodes Méastrostrongylidés (*Protostrongylus*, *Cystocaulus* et *Mullerius* des Herbivores, *Crenosoma*, *Aelurostrongylus* et *Angiostrongylus* des Carnivores).

En conclusion, le rôle des Mollusques dans la transmission des helminthiases est d'importance très différente suivant le groupe de parasites considéré :

- chez la totalité des Trématodes, le mollusque est indispensable au cycle biologique pour permettre le développement et la multiplication des phases larvaires de ce cycle ; chez quelques Trématodes seulement, le mollusque est en outre un agent de dissémination, ce rôle étant tenu plus fréquemment par des Arthropodes ou des Vertébrés ;

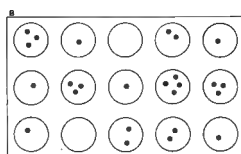
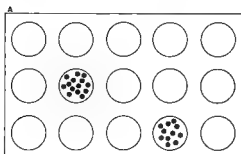
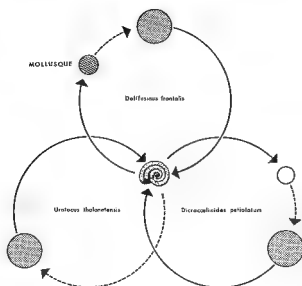
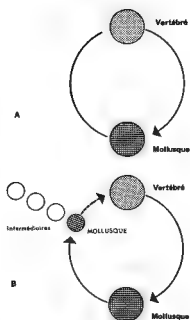
- chez les Cestodes et les Nématodes, quelques genres seulement utilisent les mollusques dans leur cycle biologique ; le rôle du mollusque est d'abriter les stades larvaires et de leur fournir, du moins chez les Cestodes, des éléments métaboliques.

\* \* \* \*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- COMBES C., 1972 - Influence of the behaviour of Amphibians on helminth life-cycles. In Behavioural aspects of parasite transmission, London.
- LIM H. et HEYNEMAN D., 1972 - Intramolluscan inter-trematode antagonism : a review of factors influencing the host-parasite system and its possible role in biological control. *Ad. Parasitol.*, 10 : 191-268.
- TIMON-DAVID J., 1960 - Recherches expérimentales sur le cycle de *Dicrocoelioides petiolatum* (A. Railliet, 1900) (Trematoda, Dicrocoeliidae). *Ann. Parasitol.*, 35 (3) : 251-267.
- TIMON-DAVID J., 1965 - Développement expérimental, formes larvaires et cycle vital de *Doliffusinus frontalis* Biocca et Ferretti, 1958 (Trematoda, Digenea, Leucochloridiidae), parasite des sinus frontaux du hérisson. *Ann. Parasitol.*, 40 (3) : 265-284.





## LEGENDE DES FIGURES

Fig. 1 : Cycle biologique des Trématodes.

A - Le parasite (sous forme de cercaire) pénètre directement dans le Vertébré.

B - Le parasite s'enkyste (sous forme de métacercare) dans un intermédiaire qui est consommé par le Vertébré. L'intermédiaire peut être un Mollusque chez certaines espèces.

Fig. 2 : Cycles biologiques de Trématodes en milieu terrestre :

Le mollusque *Helicella arenosa* (au centre) permet le développement des stades larvaires de *U. tholonetensis*, *D. petiolatum* et *D. frontalis* :

- Chez *U. tholonetensis*, la cercaire s'enkyste chez *H. arenosa* qui est consommé par le Vertébré (flèche en pointillé).
- Chez *D. petiolatum*, la cercaire s'enkyste chez un intermédiaire Arthropode, qui est consommé par le Vertébré (flèche en pointillé).
- Chez *D. frontalis*, la cercaire s'enkyste chez un intermédiaire qui est un deuxième mollusque et sera consommé par le Vertébré (flèche en pointillé).

Fig. 3 : Type de dispersion des agents infestants dans un cycle du type *Urotococcus tholonetensis* (en A) et dans un cycle de type *Dolifusinus frontalis* (en B).



ECOLOGIE DES MOLLUSQUES VECTEURS DE LA BILHARZIOSE EN GUADELOUPE  
INVENTAIRE MALACOLOGIQUE DES ESPECES DULCAQUICOLES  
ETUDE PRELIMINAIRE

par J.J. POINTIER (1) (2)

RESUME

La position particulière de la bilharziose intestinale à la Guadeloupe (insularité, espèces vectrices en nombre réduit, une seule maladie présente), permet l'étude sur le plan écologique de cette parasitose et facilite la mise en place d'un système de contrôle de la maladie. L'inventaire malacologique des espèces dulçaquicoles est en cours de réalisation.

SUMMARY

The peculiar position of the intestinal bilharziasis in Guadeloupe (Insularity, few species of vectors, only one disease of this kind in the population), permits an ecological study of this disease and makes easy establishing a system of control. A list of the freshwater molluscs is presented.

\* \* \* \*

Plusieurs affections à Trématodes existent aux Antilles Françaises. La plupart de ces maladies sont transmises par des mollusques d'eau douce, et en particulier la bilharziose intestinale (à *Schistosoma mansoni*). L'existence en Guadeloupe de la seule bilharziose intestinale, ainsi que le nombre réduit d'espèces de mollusques vecteurs (*Planorbidae*), facilite l'approche des problèmes posés par cette maladie. D'autre part, la Guadeloupe, écosystème insulaire d'assez faible étendue, permet une expérimentation plus facile que sur un continent comme l'Afrique ou l'Amérique du Sud.

Jusqu'ici, aucun procédé mécanique ou chimique n'a donné de résultats satisfaisants dans la lutte contre les mollusques vecteurs de maladies : l'assèchement périodique des collections d'eaux est la plupart du temps inefficace car les mollusques résistent plusieurs semaines voire plusieurs mois enfouis dans le substrat. Les composés chimiques réputés efficaces sont chers, et souvent générateurs de graves déséquilibres faunistiques et floristiques à cause de leur action peu spécifique. D'autres méthodes prophylactiques se sont donc révélées nécessaires, et c'est ainsi que des méthodes biologiques de lutte sont actuellement à l'étude un peu partout dans le monde. De telles méthodes nécessitent évidemment une connaissance approfondie de la systématique ainsi que de l'écologie des mollusques.

Les principaux groupes de mollusques d'eau douce sont représentés en Guadeloupe. Au XIX<sup>e</sup> siècle, SCHRAMM (1869) et MAZE (1883-1890) publient déjà plusieurs catalogues de la faune malacologique de l'île. Depuis, peu d'études ont été réalisées sur ce sujet, et les renseignements les plus récents sont donnés par PARAENSE, FAURAN, COURMES (1964).

(1) Recherches réalisées dans le cadre d'une action concertée DGRST : lutte biologique - vecteurs (équilibre et lutte biologique). Convention 72-7-0165 (Responsable Pr. Y.J. GOLVAN).

(2) Laboratoire de biologie marine et de malacologie, Ecole Pratique des Hautes Etudes, 55 rue de Buffon 75005 PARIS.

Au cours du second semestre 1972, des prospections préliminaires ont été effectuées par les différentes équipes dans plusieurs biotopes (Une étude physionomique des biotopes fait l'objet de la seconde communication).

## FAUNE MALACOLOGIQUE

### FAMILLE PLANORBIDAE

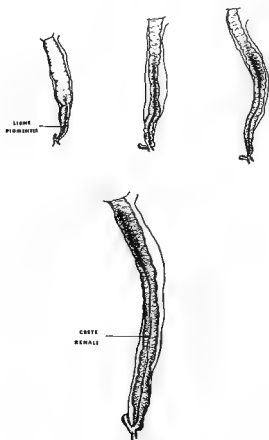
#### GENRE BIOMPHALARIA Preston, 1910

Plusieurs noms de genre ont été reconnus comme indistincts ces dernières années : *Planorbina* Haldeman, 1842, *Taphius* Adams et Adams, 1855, *Armigerus* Clessin, 1884, *Biomphalaria* Preston, 1910, *Tropicorbis* Brown et Pilsbry, 1914, *Platytyphius* Pilsbry, 1934, *Australorbis* Pilsbry, 1943.

Une unification de la nomenclature s'est donc révélée inévitable. Le genre *Biomphalaria* Preston, 1910, utilisé principalement en Afrique par les malacologistes et par les parasitologistes médicaux a prévalu sur les autres bien qu'il ne soit pas le plus ancien (Opinion 735-1965 de la commission internationale de nomenclature zoologique).

#### *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818)

La presque totalité des *Biomphalaria* récoltés en Guadeloupe appartient à l'espèce *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818).



Selon PARAENSE et DESLANDES (1955 - 1956-1959), la présence d'une crête rénale constituerait un bon critère de détermination : les individus présentant une crête rénale bien développée (ou chez les jeunes, une ligne pigmentée) appartiennent à l'espèce *Biomphalaria glabrata*.

Nous avons trouvé cette crête bien formée chez les spécimens de taille supérieure à 10 mm. Les autres présentaient une simple ébauche, et pour les très jeunes individus, une ligne pigmentée. Pratiquement tous les stades ont pu être observés (fig. 1).

Du point de vue conchyologique, *Biomphalaria glabrata* présente un polymorphisme très accentué qui avait déjà été mis en évidence sur des populations Brésiliennes par PARAENSE (1965), RICHARDS et FERGUSON (1965). Des mesures effectuées sur plus d'un millier d'individus Guadeloupéens nous ont permis d'apprécier la grande variabilité de la forme de la coquille à l'intérieur d'une même population, et également entre différentes populations.

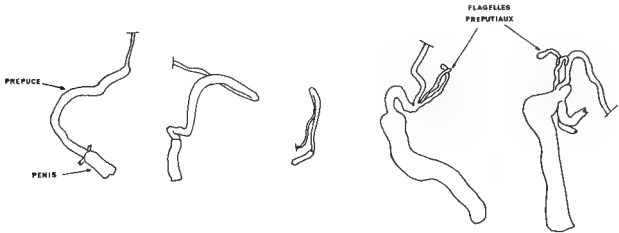
*Biomphalaria glabrata* semble être la seule espèce Guadeloupéenne parasitée par *Schistosoma mansoni*. Toutes les autres espèces de mollusques qui ont été récoltées au cours des prospections se sont révélées en effet négatives.

***Biomphalaria schrammi* (Crosse, 1864)**

C'est une espèce peu commune qui fut déjà étudiée en Guadeloupe par PARAENSE, FAURAN, COURMES (1964), sous le nom d'*Australorbis schrammi*. Une étude détaillée de la coquille ainsi que de l'anatomie a été publiée par ces auteurs.

La coquille est très différente de celle de *Biomphalaria glabrata* (fig. 3). Les adultes ne dépassent guère 7 mm de diamètre et le dernier tour de spire est fortement dévié vers la gauche.

Selon PARAENSE et al. (1964), le fourreau du penis de *Biomphalaria schrammi* est au moins quatre fois plus long que le prépuce. Ce caractère qui semble constituer un bon critère spécifique, a été effectivement retrouvé sur les exemplaires que nous avons récoltés en 1972 (fig. 2).



**GENRE DREPANOTREMA Fischer et Crosse, 1880.**

Le genre *Drepanotrema* se distingue du genre *Biomphalaria* par la présence de flagelles à la base du fourreau du penis.

***Drepanotrema kermatoides* (D'Orbigny, 1835)**

C'est une espèce très commune dans les mares de Guadeloupe. La forme de la coquille est très caractéristique : plate sur une face et carénée sauf chez les très jeunes individus.

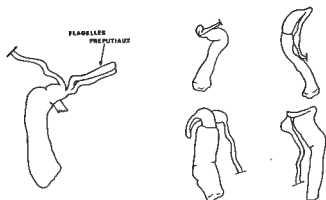
De bonnes descriptions anatomiques ont été publiées par PARAENSE et DESLANDES (1957 sous le nom de *Drepanotrema depressissimum*) (1958 b sous le nom de *Drepanotrema kermatoides*) et par HUBENDICK (1961 sous le nom de *Drepanotrema kermatoides*). Les spécimens disséqués en Guadeloupe présentaient des flagelles préputiaux assez voisins de ceux décrits par PARAENSE à propos du *Drepanotrema depressissim* (fig. 3).

***Drepanotrema lucidum* (Pfeiffer, 1839)**

Cette espèce est également abondante en Guadeloupe dans les mêmes biotopes que *D. kermatoides*. La coquille est très différente de l'espèce précédente : elle est plus épaisse et non carénée.

***Drepanotrema aeruginosum* (Morelet, 1851)**

*Drepanotrema aeruginosum* n'a été trouvé en Guadeloupe que dans deux stations de Grande Terre, et en très petit nombre. Cette espèce rare n'a jamais été, semble-t-il, signalée en Guadeloupe. PARAENSE et DESLANDES (1958a) ainsi que HARRY et HUBENDICK (1964), l'ont étudiée, respectivement, au Brésil et à Porto-Rico. Les caractéristiques anatomiques et conchyliologiques observées sur les spécimens récoltés en Guadeloupe sont similaires à celles décrites par ces auteurs : la coquille est petite (5,4 mm pour le plus grand diamètre d'un exemplaire guadeloupéen), et d'autre part, présente une sculpture particulière formant des lignes dans le sens de la spire. L'appareil copulateur mâle, quant à lui, correspond tout à fait à la description donnée par PARAENSE (fig. 4).



#### SOUS-FAMILLE PLEISIOPHYSINAE

##### *Pleisiophysa granulata* (Sowerby, 1873)

Ce mollusque a été trouvé dans quelques mares de Grande Terre, mais jamais en très grand nombre. On peut le considérer comme une espèce rare. La coquille est sinistrale, de forme assez caractéristique et couverte de petites épines qui disparaissent avec l'âge (fig. 12).

#### FAMILLE PHYSIDAE

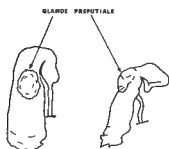
##### *Physa marmorata* Guilding, 1828

La coquille de cette espèce est fine, sinistrale, peu colorée, et en général de forme allongée (fig. 14). L'anatomie a été étudiée par HARRY et HUBENDICK (1964). Les exemplaires disséqués en Guadeloupe correspondaient bien aux descriptions faites par ces auteurs (fig. 5).

##### *Physa cubensis* Pfeiffer, 1839

Cette espèce assez voisine de la précédente, a une coquille en général plus globuleuse. De plus, on notera la présence d'une glande préputiale constituée par une masse de cellules de forme circulaire, qui est projetée extérieurement à la paroi du prépuce (fig. 6).

Les deux espèces de *Physa* sont abondantes en Guadeloupe.



#### FAMILLE AMPULLARIIDAE

##### *Ampullaria glauca* (Linné, 1758)

*Ampullaria glauca* est le seul représentant de sa famille découvert jusqu'ici en Guadeloupe. C'est une espèce assez grande (50 mm) et sujette à de fortes variations de la forme de la coquille. On trouve l'*A. glauca* dans presque tous les types de biotopes dulçaquicoles.

D'autres mollusques d'eau douce ont été également découverts en Guadeloupe au cours du second semestre 1972. Leur étude est actuellement en cours. Nous signalerons donc la présence d'espèces appartenant aux familles et aux genres suivants :

- |                     |   |
|---------------------|---|
| FAMILLE HYDROBIIDAE | - Genre <i>Potamopurgus</i> .                         |
| FAMILLE NERITIDAE   | - Genre <i>Neritina</i> .                             |
| FAMILLE ANCYLIDAE   | - Genre <i>Gundlachia</i> et Genre <i>Ferrissia</i> . |
| FAMILLE PISIIDAE    | - Genre <i>Byssanodonta</i> .                         |

L'inventaire de la faune malacologique se poursuit actuellement. La seconde étape de notre programme de recherches comportera l'étude éthologique et écologique des principales espèces, notamment celle qui est vectrice de la bilharziose. Ces études sont indispensables pour que se dégagent les moyens d'action pouvant être mis en œuvre dans le cadre de la lutte biologique contre la maladie.

\* \* \* \*

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

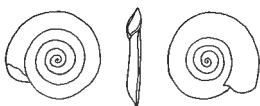
- BARBOSA F.S., BERRY E.G., HARRY H.W., HUBENDICK B., MALEK E.A., PARAENSE W.L., 1968. - A guide for the identification of the snail intermediate hosts of Schistosomiasis in the Americas. *Pan American Health Organization Scientific publication* N° 168. October 1968. 122 p. 69 fig.
- GELJSKES D.C., PAN T., 1957. - Suriname freshwater snails of the genus *Pomacea*. *Studies on the fauna of Suriname and other Guyanas*. I, p. 41-50. 2 pl.
- HARRY W.L., HUBENDICK B., 1964. - The freshwater mollusca of Puerto-Rico. *Med. Göteborgs Mus. Zool. Avd.* 136 p. 1-77. 1 tab. 160 fig.
- HUBENDICK B., 1961. - Studies on Venezuelan Planorbidae. *Med. Göteborgs Mus. Zool. Avd.* 132, p. 1-50. 123 fig. 3 pl.
- MAZE W.L., 1883. - Catalogue révisé des mollusques terrestres et fluviatiles de la Guadeloupe et de ses dépendances. *J. Conchyl.* 31, p. 5-54.
- MAZE W.L., 1890. - Supplément au catalogue révisé des mollusques terrestres et fluviatiles de la Guadeloupe et de ses dépendances. *J. Conchyl.* 38, p. 19-34.
- PARAENSE W.L., 1965. - Variação intraespecifica da concha de *Australorbis glabratus*. *Cienc. Cult. S. Paulo*, 16, (3) p. 286.
- PARAENSE W.L., DESLANDES N., 1955. - Observations on the morphology of *Australorbis glabratus*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 53 (1), p. 87-112. 9 fig. 4 pl.
- PARAENSE W.L., DESLANDES N., 1956. - Diagnostic characters of the Brazilian species of *Australorbis*. *Rev. Brasil Biol.*, 16, p. 281-286. 5 fig.
- PARAENSE W.L., DESLANDES N., 1957. - The Brazilian species of «*Drepanotrema*». III. - D. «*depressissimum*» (Moricand, 1837). *Rev. Brasil Biol.*, 17 (3), p. 339-344. 14 fig.
- PARAENSE W.L., DESLANDES N., 1958. - The Brazilian species of «*Drepanotrema*». VI. - D. «*kermatoides*» (Orbigny, 1835). *Rev. Brasil Biol.*, 18 (3), p. 293-299. 6 fig.
- PARAENSE W.L., DESLANDES N., 1958. - The Brazilian species of «*Drepanotrema*». V. - D. «*nordestense*» (Lucena, 1953). *Rev. Brasil Biol.*, 18 (3), p. 275-281. 11 fig.
- PARAENSE W.L., DESLANDES N., 1959. - The renal ridge as a reliable character for separating *Taphius glabratus* from *Taphius tenagophilus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 8 (4), p. 455-472. 26 fig.
- PARAENSE W.L., FAURAN P., COURMES E., 1964. - Observations sur la morphologie la taxonomie, la répartition géographique et les gîtes d'*Australorbis schrammi*. *Bull. Soc. Path. Exot.* 57, p. 1236-1254. 17 fig. 3 photos.
- RICHARDS C.S., FERGUSON F.F., 1965. - Variability in *Australorbis glabratus* (Say). *Trans. Am. Microsc. Soc.* 84, p. 580-587.
- SCHRAMM M.A., 1869. - Catalogue des coquilles et des crustacés de la Guadeloupe envoyés à l'exposition universelle de 1867 par l'administration de la colonie. Coll. Cailliet et I. Desbonne. Basse Terre. Imprimerie du gouvernement, 1869.



**BIOMPHALARIA GLABRATA.**



**BIOMPHALARIA SCHRAMMI.**



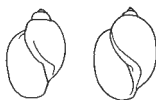
**DREPANOTREMA KERMAOIDES.**



**DREPANOTREMA AERUGINOSUM.**



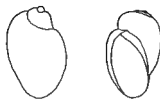
**PHYSA MARMORATA.**



**PHYSA CUBENSIS.**

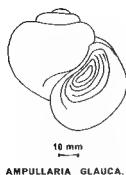


**DREPANOTREMA LUCIDUM.**



**PLESIOPHYSA GRANULATA.**





## LEGENDE DES FIGURES

- Fig.1 : *Biomphalaria glabrata* : Rein et crête rénale.
- Fig.2 : *Biomphalaria schrammi* : Appareil copulateur mâle (specimens Guadeloupéens).
- Fig.3 : *Drepanotrema kermatoides* : Appareil copulateur mâle (specimens Guadeloupéens).
- Fig.4 : *Drepanotrema aeruginosum* : Appareil copulateur mâle (specimens Guadeloupéens).
- Fig.5 : *Physa marmorata* : Appareil copulateur mâle (specimens Guadeloupéens).
- Fig.6 : *Physa cubensis* : Appareil copulateur mâle (specimens Guadeloupéens).



## MOLLUSQUES VECTEURS DE LA BILHARZIOSE EN GUADELOUPE

### Approche physiologique des biotopes (étude préliminaire)

par R. HOUIN (1), J. GOLVAN (2), C. COMBES (3), M. DENIAU (1), et P. PERIAC (2)

## RESUME

Cette étude est le résultat d'une prospection systématique, en Guadeloupe, des terrains propices au développement de *Biomphalaria glabrata*, hôte intermédiaire de *Schistosoma mansoni*. Nous avons testé le taux de Planorbes infestées par les cercaires de *Schistosoma* pour déterminer les foyers à partir desquels la bilharziose se répand dans l'île.

## SUMMARY

This study results of a systematic prospecting in Guadeloupe of the propitious areas for a development of *Biomphalaria glabrata*, intermediate host of *Schistosoma mansoni*. We tested the rate of Planorbidae infested by cercariae of *Schistosoma* in order to determine the points from where the disease expands to the other island parts.

\* \* \* \*

La connaissance des principales espèces de Mollusques dulcaquicoles de l'île a permis d'aborder, dans un second temps, l'étude d'un certain nombre de stations.

Cette étude était destinée :

- à fixer avec précision la localisation à une époque donnée d'un certain nombre de populations de mollusques hébergeant le parasite ,
- à esquisser les grandes lignes des caractéristiques des collections d'eau capables d'héberger le Mollusque vecteur ;
- à préparer le travail de caractérisation écologique en fournissant un certain nombre de stations-types, justiciables d'une étude approfondie.

Rappelons très brièvement que *Schistosoma mansoni*, le Trématode de la bilharziose, effectue obligatoirement une partie de son cycle chez un Planorbidae, dans l'eau. Le miracidium sort de l'œuf (pondu embryonné). Il pénètre activement le mollusque et se développe chez lui (stades sporocyste) pour donner une cercaire. Celle-ci quitte l'hôte spontanément et nage activement à la recherche de l'hôte définitif, l'homme. Elle pénètre à travers la peau (baignade) et, dans l'organisme, devient adulte. Les adultes, sexués, pondent des œufs, qui sont éliminés par les fèces et doivent se trouver en milieu aquatique pour reprendre le cycle.

(1) Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Médecine de Créteil - PARIS-VAL de MARNE  
6, rue du Général Sarrail, 94000 CRETEIL.

(2) Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Médecine Saint-Antoine - PARIS  
27, rue de Chaliguy, 75012 PARIS.

(3) Département de biologie animale, Collège scientifique universitaire de Perpignan  
Avenue de Villeneuve, 66000 PERPIGNAN.

## METHODES

Dans le cadre des zones antérieurement établies, deux ont fait l'objet d'une prospection dense :

la région nord-ouest de la basse-terre (région de Deshaies)

la région sud-ouest de la basse-terre (région de Basse-Terre)

tandis que d'autres zones n'étaient abordées que sous la forme de sondages, à titre comparatif :

région de Trois Rivières

région de Goyaves

} en basse-terre

région de Pointe-à-Pître

région de Vieux-Bourg - Morne-à-l'eau

} en grande-terre



Fig. 1 : Régions étudiées en Guadeloupe (sauf la zone en pointillé serré, qui est une mangrove).

Systématiquement, la prospection s'est attachée à explorer les collections d'eau sur la plus grande surface possible. Facile lorsqu'il s'agissait de mares, cette méthode a rencontré quelques difficultés dans l'étude des canaux, souvent longs de plusieurs kilomètres. Ces difficultés sont généralement devenues insurmontables lors de l'étude des rivières, dont de longs segments sont très difficilement accessibles, en particulier dans leur cours supérieur.

120 stations ont été déterminées et étudiées, l'étendue de chacune variant selon les conditions locales de quelques dizaines de mètres à plusieurs centaines. Dans chaque station, la faune malacologique a été systématiquement recueillie, soit en totalité, soit sous forme d'un échantillonnage suffisant pour fournir des résultats statistiquement valables.

Tous les Mollusques récoltés (environ 3 500) ont été ensuite testés individuellement au laboratoire, pour déceler une éventuelle émission de cercaires, et provisoirement déterminés. Les *Planorbidae* ont été soit mesurés et disséqués pour détermination définitive, soit préparés pour étude ultérieure. Les autres Mollusques ont été préparés pour étude ultérieure.

Sur les 120 stations ainsi étudiées, 41 contenaient des *Planorbidae* que les critères systématiques généralement admis font appartenir à l'espèce *Biomphalaria glabrata*. Parmi ces stations, 13 ont permis de recueillir des Planorbes émettant des cercaires de *Schistosoma mansoni*.

## PHYSIONOMIE DES STATIONS HEBERGEANT BIOMPHALARIA GLABRATA

Le trop faible nombre de stations étudié, ainsi que le déséquilibre volontaire dans l'étude des diverses régions de l'île interdisent de parler d'un inventaire des stations. Cependant, d'ores et déjà, un certain nombre de types de stations a pu être dégagé.

Trois grandes régions biogéographiques sont à distinguer :

- la grande-terre, calcaire, sèche et sans relief, à laquelle on doit rattacher Marie-Galante ;
- la basse-terre, volcanique, généralement humide (mais avec une exception importante) et montagneuse ;
- la région urbaine de Pointe-à-Pître.

Chacune de ces régions possède des stations positives, très différentes les unes des autres.

### 1) LA VILLE DE POINTE-A-PITRE

Elle constitue certainement l'un des foyers majeurs de bilharziose de l'île. La ville est parcourue par un réseau de canaux, largement utilisés comme égouts, et grouillant de Planorbes. Diverses cercaires ont été obtenues à partir de ces Mollusques, parmi lesquelles celles de *S. mansoni*. Seuls quelques sondages ont été effectués dans ce type de biotope.

### 2) LA GRANDE-TERRE ET MARIE-GALANTE

Les collections d'eau de cette région sont avant tout constituées par des mares. Elles constituent un biotope extrêmement favorable aux *Planorbidae* et en particulier à *B. glabrata*, ainsi qu'en témoignent l'abondance des récoltes et la taille exceptionnelle de certains exemplaires recueillis. (Planche 1 a).

Ces stations semblent peu favorables à la bilharziose. Une seule mare, dans la région de Morne-à-l'eau, a fourni des Mollusques émettant des cercaires de *S. mansoni*. Par contre, plusieurs autres cercaires ont pu être isolées.

D'une manière générale, ces stations sont soumises à de très larges fluctuations, en fonction du régime des pluies. En outre, elles ne sont probablement pas homogènes. Les sondages effectués sont très insuffisants et une étude détaillée est nécessaire.

La grande-terre abrite encore deux autres types de biotopes :

- les canaux de drainage des zones basses, en bordure de mangrove (région de Vieux-Bourg - Morne-à-l'eau). A proximité de la mangrove, ces canaux hébergent une flore et une faune halophiles, mais celle-ci cède vite le pas à des espèces dulçaquicoles. Les quelques sondages effectués ont permis de trouver plusieurs stations colonisées par *B. glabrata*. Aucune n'a fourni de mollusque émettant des cercaires de *S. mansoni*, mais une étude détaillée reste à faire ;

- les canaux d'évacuation des usines (distilleries, raffineries). En première approximation, ils peuvent être rattachés à ceux de la basse-terre. L'un d'entre eux (usine Blanchette) constitue une station bilharzienne connue et permanente.

### 3) LA BASSE-TERRE

Elle constitue une région beaucoup plus hétérogène, du fait du relief et du régime climatique. La distinction élémentaire entre côte au vent, très humide, et côte sous le vent, sèche, appelle quelques correctifs, liés à l'altitude des éléments de la chaîne montagneuse centrale et à l'activité humaine. En réalité, les zones réellement sèches restent rares car, dès que l'altitude du massif montagneux le permet, l'utilisation des eaux de ruissellement a donné lieu à une intense irrigation.

Aussi la côte sud-est de la basse-terre n'est-elle pas sensiblement différente, en ce qui concerne les types de biotopes, de la côte au vent. Seule la région nord-est (région de Deshaies), sèche parce que sous le vent, et non-irrigable, faute d'un château d'eau, s'individualise.

#### LA REGION DE DESHAIES

Elle possède peu de points d'eau et ces derniers ont pu être étudiés de manière relativement poussée. Elle possède deux types de biotopes :

les rivières, assez nombreuses, mais modestes. Contrairement à ce qui a été observé dans le reste de l'île, elles abritent des Planorbes dans leur cours inférieur, et ceci généralement sur une distance extrêmement courte : quelques centaines de mètres. Le niveau de la station positive varie peu par rapport à celui de la mer, du moins à l'époque de la prospection, c'est-à-dire en fin de saison sèche. Des déplacements de la population de mollusques vers l'amont ou l'aval sont envisageables à d'autres saisons.

Quoi qu'il en soit, ces biotopes paraissent étroitement définis, s'arrêtant brusquement vers l'amont comme vers l'aval, tandis que les populations de mollusques commensaux (Limnées, Ampul-laires) continuent à prospérer. Par contre, ici comme dans les autres stations, la présence des Nérithes paraît exclusive de celle des Planorbes.

L'une de ces stations, située en plein village, a été trouvée positive en *S. mansonii* (Pinaud).

Les mares, rares et paraissant comparables à celles de grande terre. Elles ne méritent une mention spéciale parce que deux d'entre elles ont été trouvées exclusivement colonisées par *Biomphalaria schrammi*.

#### LA REGION SUD-EST

Elle a été prospectée entre Marigot (rivière Beaugendre) et Basse-Terre, mais un sondage a été effectué à Trois-Rivières (rivière du petit Carbet) et a permis de retrouver les mêmes éléments que sur la côte est. Cette zone est caractérisée par de faibles précipitations, mais par un fort ruissellement. On y trouve donc de puissantes rivières et un réseau extrêmement dense de canaux de toutes tailles, servant à l'irrigation et aussi au fonctionnement des usines (distilleries, cafésières), même à l'heure actuelle.

Jamais, dans cette zone, *B. glabrata* n'a été trouvé dans le cours inférieur ou moyen des rivières. Celles-ci sont par contre très couramment occupées par diverses espèces de Nérithes, au reste bien connues de la population, qui les consomme. Mais cette apparente négativité cache en réalité une très riche prolifération de Planorbes, dans des collections d'eau nettement moins évidentes.

Trois types de biotopes ont été individualisés :

#### Les biotopes d'altitude :

Ils sont d'un abord extrêmement difficile car ils nécessitent d'accéder à des affluents faibles, à courant modéré. Ces derniers sont probablement nombreux, mais situés en pleine forêt. Ceci explique leur méconnaissance et leur petit nombre (trois) dans la prospection.

Leur importance dans la transmission de la maladie est nulle, car ils sont en dehors des axes de l'activité humaine. Ils ne sont donc pas infestés par le parasite.

Par contre leur importance théorique est grande, car ils sont probablement, à l'occasion de crues, la source à partir de laquelle s'approvisionnent toutes les stations du bassin sous-jacent. Toute éradication passe obligatoirement par leur suppression. Or les problèmes posés par leur simple détection sont déjà extrêmement ardues !

### Les canaux d'irrigation :

Nombreux et complexes, ils sont tous conçus sur un modèle de base :

une prise d'eau (simple mur de pierre) dans le courant d'une rivière les alimente (Fig. 2).



Fig.2 : Schéma d'un canal d'irrigation. En pointillé les zones favorables à la pullulation du Planorbe. Les losanges indiquent les gradients de densité observés et leur disposition par rapport au cours d'eau.

la première partie de leur cours est rapide, le débit variable, mais généralement assez fort. Cette zone abrite habituellement la faune de la rivière (écrevisses, crabes, néritines), mais aucun Planorbe.

Puis se succèdent des subdivisions, aboutissant à des canaux de plus en plus faibles, au courant de plus en plus lent. La faune des rivières disparaît et les espèces commensales des Planorbes apparaissent : Ampullaires, Limnées. Un peu plus loin apparaissent les premiers Planorbes, d'abord isolés, puis de plus en plus denses, pour passer par un maximum et se raréfier à nouveau.

Les canaux se terminent de diverses manières : certains aboutissent à la mer ; d'autres sont entièrement absorbés par l'irrigation (c'est le cas en particulier dans la région de Baillif, où la zone côtière paraît aussi sèche que dans le nord, tandis que, un peu plus haut, une intense irrigation permet d'abondantes cultures maraîchères, beaucoup enfin retournent à la rivière après un trajet de longueur variable (Planche 1 b).

L'étude systématique de toutes les branches de ces canaux a toujours permis de retrouver la zone de densité maximale de la population de Planorbes. Son niveau latitudinal et sa longueur semblent dépendre de caractéristiques propres au canal, et il arrive que celui-ci se termine en pleine zone de densité maximale en se jetant dans une rivière. La limite de la population de Planorbes est alors stricte : seules des coquilles vides se retrouvent dans l'eau de la rivière, tandis qu'apparaissent les néritines.

Si ces canaux traversent une agglomération, ils sont utilisés comme égouts, et les Planorbes émettent des cercaires. Leur courant, quoique modéré, leur assure une eau limpide et fraîche, et enfants et adultes ne craignent pas d'y mettre le pied. Plus grave encore, plusieurs d'entre eux sont lourdement infestés, se jettent dans des rivières à quelques centaines de mètres au-dessus de baignades réputées (rivière des Pères à Basse-Terre, Coulisse à Trois-Rivières) et signalées par des panneaux officiels. Ils y déversent chaque jour des millions de cercaires dont baigneurs et lavandières ne peuvent soupçonner l'existence (Planche 1 c).

### Les canaux d'usines :

Basés sur un principe identique, ils sont beaucoup plus puissants et se divisent peu, puisque c'est à leur force motrice qu'il est fait appel. Dans tous ceux qui ont été étudiés, aucun Planorbe n'a pu être trouvé dans le cours même du canal.

Par contre, tout bras mort, tout suintement, toute dérivation, naturelle ou artificielle, constitue une station pullulante de Planorbes. Cette disposition implique obligatoirement l'apport des Mollusques par le canal et vient, s'il en était besoin, confirmer l'importance des gîtes d'altitude.

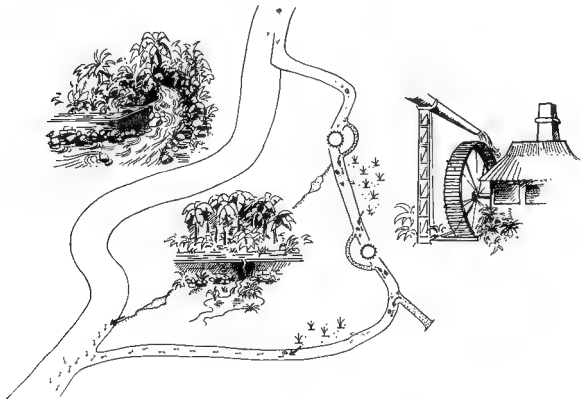


Fig. 3 : Schéma d'un canal d'usine : le courant est trop violent pour permettre l'implantation du mollusque. Mais ce dernier est véhiculé jusqu'aux petites collections d'eau annexes, où il prolifère et s'infeste. Les cercaires sont ensuite emportées par le courant.

Bien entendu, la positivité d'une station est un danger en aval, jusqu'à la mer, quelle que soit la physionomie prise alors par le cours d'eau.

Une conclusion à ce travail préliminaire serait prématurée et imprudente. Une étude écologique approfondie permettra seule d'obtenir les précisions indispensables à l'utilisation de ces données. D'autre part seule une petite partie de l'île a été étudiée. Mais d'ores et déjà, l'activité humaine apparaît comme primordiale dans l'implantation de la bilharziose en Guadeloupe :

Il existe bien des biotopes naturels. Mais, si leur importance malacologique est grande, leur rôle dans le cycle de la parasitose est faible : mares très peu infestées en grande-terre, rivières de la région de Deshaies peu nombreuses et géographiquement limitées, gîtes d'altitude de la basse-terre hors de l'atteinte de l'homme.

La presque totalité des biotopes recensés fonctionnant effectivement dans la transmission de la maladie est constituée de gîtes artificiels, et avant tout par les canaux, qu'ils soient ruraux ou urbains.

Anthroponose stricte, du moins dans les conditions locales, la bilharziose dépend donc encore de l'activité humaine pour la pullulation de son hôte intermédiaire ! C'est dire que l'éradication, si elle est possible, devra obligatoirement passer par l'éducation et la coopération de la population, quels que soient les moyens mis en œuvre par ailleurs.





Photo 1a : Mare de Grande Terre : biotope favorable à *Biomphalaria glabrata*, mais non à *Schistosoma mansoni*.



Photo 1b : Canal d'irrigation d'une bananeraie : station positive en *S. mansoni*.



Photo 1c : Traversée d'une zone habitée par un canal d'irrigation. Le cycle complet de *S. mansoni* s'y fait sur quelques mètres.



# ETUDE DES VARIATIONS SAISONNIERES DES POPULATIONS DE *LYMNAEA NATALENSIS* DANS LE MOYEN OUEST DE MADAGASCAR

par A. BOUCHET, P. DAYNES et Ch. RAMAIANJAONA (1)

## RESUME

Une étude systématique des populations de *Lymnaea natalensis* dans divers types de biotopes dans le Moyen-Ouest de Madagascar a permis de mettre en évidence une corrélation étroite entre les populations de limnées et les conditions climatiques et écologiques. Ces quelques données nous permettent de prévoir les périodes d'infestation probables du bétail et d'appliquer les mesures prophylactiques en temps voulu.

## SUMMARY

A systematic study of *Lymnaea natalensis* populations in many biotopes of the Middle-West of Madagascar permitted to make obvious a strait correlation between Limnaeids populations and ecological conditions (climatic). This data permits us to foresee the periods of a likely infestation for the cattle and to apply prophylactic measures at the right time.

\* \* \* \*

## INTRODUCTION

*Lymnaea natalensis*, mollusque gastéropode d'eau douce est très abondant à Madagascar. Son importance médicale est grande puisqu'il est l'hôte intermédiaire de *Fasciola gigantica*, parasite du foie de nombreux animaux domestiques et de l'Homme.

L'extension de la Fasciolose chez les Bovins provoquant une grave menace pour le cheptel de la grande île, il fut décidé d'entreprendre l'étude du cycle de la maladie et des moyens de prophylaxie à mettre en œuvre.

Dans le cadre de ce travail, il était indispensable de connaître l'écologie de la limnée.

Nous ne présentons ici que l'étude des variations saisonnières des populations de *Lymnaea natalensis* portant sur deux années d'observations

## I - ETUDE DE L'ENVIRONNEMENT

### 1.1 - LE MILIEU PHYSIQUE

La région étudiée est située à 180 km de Tananarive, au cœur du Moyen-Ouest malgache, à une altitude moyenne de 900 m. C'est une pénéplaine primaire recréusée comportant 33 p. 100 de plateaux, 27 p. 100 de terres basses plus ou moins marécageuses et 40 p. 100 de pentes de productivité faible ; le tout forme un ensemble de collines entrecoupées de bas-fonds extrêmement nombreux et digités.

(1) Institut d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux. Région de recherche de Madagascar, B.P. 4 Tananarive.

Les sols sont ferrallitiques et acides, allant de bons à très mauvais avec l'augmentation de la pente ; les sols des colluvions de bas de pentes sont très riches.

La température moyenne annuelle est de 21,9° C, l'écart entre le mois le plus chaud (février 23,6° C) et le mois le plus froid (juillet 18,5° C) étant de 5,1° C. La moyenne des maxima du mois le plus chaud est de 28,3° C ; celle des minima du mois le plus froid est de 11,8° C. L'écart entre les moyennes annuelles sur dix ans a été de 2,5° C (23,6° et 21,1° C).

La pluviométrie moyenne annuelle est de 1593,6 mm, l'écart entre les chutes annuelles sur dix ans étant très important 783,2 mm (1853,3 et 1070,1).

85 p. 100 des précipitations ont lieu en cinq mois, de novembre à mars inclus, montrant l'alternative très nette d'une saison des pluies et d'une saison sèche.

L'humidité relative moyenne est de 64,6 p. 100, l'écart entre le mois le plus humide (février 76,1) et le mois le plus sec (septembre 50,1) est peu important (25 points).

Sur le climatogramme, non représenté ici, on constate que cinq mois (de Décembre à Avril) sont situés en climat chaud et humide, que trois mois (Juin à Août) sont en climat tempéré et qu'un seul mois, Septembre, peut être qualifié de sec. Dans l'ensemble, ce climat ne présente pas d'extrêmes ; l'altitude et la pluviométrie en font un climat tropical d'altitude moyennement chaud à tempéré, plutôt humide.

La végétation naturelle forme une savane dans laquelle quatre espèces fourragères constituent l'essentiel du recouvrement des terres sèches ; par ordre d'intérêt décroissant pour le bétail, il s'agit d'*Hyparrhenia rufa*, *Heteropogon contortus*, *Imperata cylindrica* et *Aristida multicaulis*. Sur les colluvions, on trouve en plus des précédentes, *Panicum maximum* et *Hyparrhenia variabilis*, grandes graminées à cycle assez long. Les prairies flottantes des bas-fonds comprennent des *Cynodon*, *Leersia*, *Panicum*, petites graminées appréciées du bétail et vertes toute l'année, ainsi que des Cypéracées.

## 1.2 - LE MILIEU HUMAIN . ASSOCIATION AGRICULTURE-ELEVAGE

Le Moyen-Ouest est une région à vocation essentiellement agricole où l'on pratique l'association agriculture-élevage.

Les cultures agricoles dominantes sont le riz dans les bas-fonds, cultivé de façon traditionnelle sur des petites parcelles individuelles, manioc et maïs sont cultivés sur des plateaux (ou tanety), quand la richesse du sol le permet. Le reste des plateaux, les pentes et certains bas-fonds impropres à la culture sont laissés en pâturages.

L'élevage de zébus, également de type traditionnel, est surtout orienté vers la production de bœufs d'embouche. Les animaux sont également largement utilisés pour le labour et le piétinage des rizières. Les troupeaux sont de moyenne importance (10 à 60 têtes environ) et pâturent sous surveillance dans les espaces laissés à leur disposition ils vont s'abreuver dans les bas-fonds en des lieux bien déterminés pendant la culture du riz ; après la récolte, ils ont accès à l'ensemble du bas-fond ce qui permet de trouver un complément alimentaire en fourrage vert.

Les paysans de la région sont groupés en villages sur les tanety et exploitent le bassin versant correspondant ; les bovins appartenant à ces agriculteurs ont des habitudes sédentaires et fréquentent les mêmes pâturages de plateaux et les mêmes bas-fonds toute l'année.

Il en ressort donc que l'ensemble collines plus bas-fonds correspondants constitue un bassin versant formant une entité socio-géographique assez homogène.

## 1.3 - LE MILIEU AQUATIQUE

Le réseau hydrographique est très dense et bénéficie de très nombreuses sources permanentes limnocènes aux ruptures des pentes qui donnent naissance à divers milieux aquatiques. D'autre part, la pluie soit par action directe, soit par ruissellement, est un des facteurs essentiels de l'alimentation en eau des bassins versants pendant cinq mois de l'année.

On peut distinguer :

- les petites mares permanentes, à flanc de pente, aménagées en bassin d'arrosage ou de pisciculture ;
- les canaux d'irrigation alimentés soit par les sources soit par le débordement des bassins et soumis à des curages plus ou moins réguliers ;
- les rizières : milieu temporairement inondé, alimenté par les canaux d'irrigation ; la durée de mise en eau est conditionnée d'une part par le cycle cultural du riz et, d'autre part, est fonction de la situation géographique des différentes rizières au sein du bassin versant.

Après la moisson, certaines rizières de bas de pente sont irriguées en saison sèche, permettant l'apparition des prairies temporaires, inondées, servant de pâturages aux animaux.

- les prairies flottantes, plus ou moins marécageuses selon les endroits et la saison ; ces milieux s'observent dans les bas-fonds mal drainés ou impropres à la culture du riz ;
- les ruisseaux et rivières à débit permanent, alimentés par tout le complexe hydrologique d'un ou de plusieurs bassins versants.

La végétation supérieure est très variable selon ces milieux :

- de type rivulaire et ubiquistes sur les berges des ruisseaux, des bassins et dans les canaux d'irrigation (*Jussiaea*, *Panicum*, *Polygonum*, *Pycreus*, *Axonopus*).
- de type purement aquatique dans les ruisseaux, les mares et certaines portions de canaux d'irrigation (*Typha*, *Nympha*, *Potamogeton*, *Eichloria*).
- végétation à phragmites sur les zones d'alluvions sableuses.

Les rizières inondées en saison sèche nous montrent le cortège de plantes de milieu humide ou saturé (*Scirpus*, *Pycreus*, *Leersia*, *Jussiaea*, *Echinochloa*, *Floscopa*, *Commelina*, *Aschynomene*), l'association végétale étant d'autant plus recouvrante que l'on s'approche des zones engorgées.

- les prairies flottantes des bas-fonds comprennent de petites graminées (*Cynodon*, *Leersia*, *Panicum*) ainsi que des cypéracées, characées et fougères observées surtout dans les zones les plus malsaines et les plus instables.

## II - METHODOLOGIE - LIMITES DE L'ETUDE

A la suite de nombreuses prospections préliminaires effectuées dans la région du Moyen-Ouest, nous nous sommes rendu compte que les limnées étaient présentes dans tous les types de milieux précédemment cités à l'exception des prairies flottantes à végétation dense.

Nous avons décidé d'étudier les populations de mollusques dans quatre types de milieux : bassins-mares, canaux d'irrigation rizières, ruisseaux.

Il nous était difficile d'apprécier la densité de population par unité de surface étant donné la variété des gîtes, cette méthode d'échantillonnage implique par ailleurs une dégradation des cultures. Aussi avons-nous adopté une technique globale, plus grossière, consistant en un ramassage manuel des mollusques pour l'ensemble des gîtes de cinq bassins versants, choisis au hasard et répartis dans un rayon de 20 kilomètres.

Les prospections sont effectuées selon un rythme mensuel par une équipe de 4 personnes (toujours les mêmes). La densité de population est appréciée par le nombre moyen de mollusques récoltés par heure et par prospecteur. La totalité des limnées est ensuite remise en place après la récolte.

Les observations ont été effectuées de Juillet 1970 à Août 1972. Elles constituent la première étape de notre travail, nous permettant d'avoir une idée générale de la dynamique des populations pour l'ensemble de la région considérée.

En ce qui concerne les facteurs du milieu, seuls ont pu être étudiés : la température moyenne mensuelle extérieure, la température moyenne de l'eau de surface des différents gîtes au moment de chaque prospection, la pluviométrie moyenne mensuelle et le cycle cultural du riz. Faute d'appareils enregistreurs, les températures ont été relevées au thermomètre à mercure. La pluviométrie a été étudiée au pluviographe enregistreur, ce qui nous permet de calculer l'intensité maximale horaire.

### III - RESULTATS ET INTERPRETATION

Ils figurent sur les graphiques ci-joints et traduisent une évolution saisonnière très nette.

Si l'on compare les quatre courbes de populations, on constate que les densités maximales sont différentes en intensité. Les maximums les plus élevés et les plus nets s'observent dans les ruisseaux et dans les rizières. Dans les bassins et les canaux, les densités maximales sont plus faibles et les courbes sont moins accusées.

Pour une année donnée, ce maximum de population est noté à une époque variable avec le type de milieu, ce qui semble indiquer que les conditions écologiques optimales n'apparaissent pas simultanément partout. Cette période la plus favorable change légèrement d'une année sur l'autre pour les canaux et les bassins à la différence des ruisseaux et des rizières où elle est constante pour les deux années considérées.

La comparaison de l'évolution saisonnière des populations de limnées pour chaque milieu considéré, avec les facteurs du milieu étudiés, nous permettent de faire quelques observations et d'échafauder quelques hypothèses compte tenu des observations qualitatives que nous avons pu faire par ailleurs.

#### POPULATIONS DANS LES RUISSEAUX

Le maximum de population est observé de Septembre à Novembre avec un pic très net en Novembre. En Septembre, la saison froide est terminée et l'eau courante commence à se réchauffer.

Le soleil monte progressivement au zénith, l'eau est claire, favorisant l'assimilation chlorophyllienne et le développement du phytoplancton. Jusqu'à la fin Novembre, les précipitations sont en général modérées et assez espacées dans le temps.

A partir de Décembre, la turbidité augmente, le débit des ruisseaux s'intensifie et provoque une migration passive des mollusques ; on constate alors une chute brutale des populations, malgré une température de l'eau assez élevée ; en réalité, plusieurs phénomènes doivent vraisemblablement intervenir :

- diminution réelle du nombre de limnées compte tenu de la dispersion des mollusques ;
- diminution apparente liée à l'augmentation du volume d'eau et aux difficultés de prospection.

Après la saison des pluies, le pourcentage de mollusques reste assez bas et irrégulier en relation probable avec la température de l'eau.

#### POPULATIONS DANS LES RIZIERES

La population de limnées dans ce type de milieu semble conditionnée par les facteurs climatiques d'Avril-Mai à Novembre et par le cycle cultural du riz d'Octobre à la moisson.

Dans le Moyen-Ouest de Madagascar, la moisson a lieu en Avril et Mai. Après la récolte, les rizières encore inondées sont recouvertes de quelques centimètres d'eau. Pendant la saison sèche, l'excellente luminosité et une température de l'eau supérieure à celle observée dans les ruisseaux favorisent la pullulation des limnées qui atteignent son maximum en Septembre, soit deux mois avant ce que nous avons pu observer dans les ruisseaux.

Cette température supérieure est liée à la faible hauteur d'eau dans les rizières, à l'absorption du rayonnement solaire sur des sols de couleur très foncée et également à l'absence d'ombrage. La comparaison des courbes de températures entre les deux types de milieux montre des différences peu importantes, car nos relevés mensuels ont été effectués le matin avant le réchauffement complet de l'eau des rizières.

A partir d'Octobre, les pratiques agricoles deviennent un facteur prédominant.

D'Octobre à Décembre, les rizières sont asséchées, labourées, remises en eau puis piétinées ; les repiquages ont lieu en Décembre et Janvier. Tous ces travaux évidemment entraînent une grosse mortalité des mollusques et l'on assiste à une chute de population extrêmement nette.

La non simultanéité de ces différents travaux pour toutes les parcelles de rizières explique que la population globale pour l'ensemble des cinq bassins versants ne soit pas nulle à cette période de l'année.

Après le repiquage, on observe un réensemencement en mollusques, en tâche d'huile à partir des canaux d'irrigation. Pendant la pousse du riz, les densités de populations augmentent mais les chiffres relevés sont peut-être inférieurs à la réalité, compte tenu des difficultés de prospection. Un autre facteur pouvant également jouer est la diminution d'éclairement de l'eau au fur et à mesure de la croissance du riz.

#### POPULATIONS DES CANAUX

Les variations saisonnières sont moins brutales que pour les populations précédemment étudiées et la courbe est irrégulière.

Plusieurs explications peuvent être invoquées pour ces irrégularités :

- morphologie très différentes d'un canal à l'autre : largeur, profondeur de l'eau, ensoleillement, encombrement par la végétation suivant le soin apporté à l'entretien ; le débit de l'eau est également très variable et l'on assiste à tous les intermédiaires entre des eaux courantes à débit assez vif et des eaux stagnantes.

- curages pluriannuels des canaux mais à des époques différentes suivant les propriétaires.

- assèchement de certaines portions de canaux en fonction de la saison et des travaux rizicoles.

Le maximum des populations est observé en Novembre pour l'année 1971, en Décembre pour l'année 1972, mais la densité de population reste élevée jusqu'en Avril pour la seconde année d'observation et diminue graduellement en 1971.

On peut avancer comme hypothèse que le choc des crues est plus atténué dans les canaux d'irrigation que dans les ruisseaux.

En saison froide, la densité de population est également influencée par la température de l'eau.

#### POPULATIONS DANS LES BASSINS-MARES

La courbe est de faible amplitude, irrégulière mais d'allure bimodale avec un maximum net en fin de saison sèche et un autre en Avril-Mai.

Si l'on compare les variations saisonnières de population avec la température de l'eau qui est très élevée à certaines périodes, il semble que les fortes températures supérieures à 26° - 27° soient un facteur limitant la pullulation des limnées.

#### CONCLUSIONS

L'étude des variations saisonnières des populations de *Lymnaea natalensis*, effectuée dans différents milieux aquatiques de cinq bassins versants, pendant une période de deux années consécutives nous permet de faire les observations suivantes :

- l'évolution saisonnière est très nette ;

- les densités et les périodes de populations maximales sont variables avec le type de milieu considéré ;

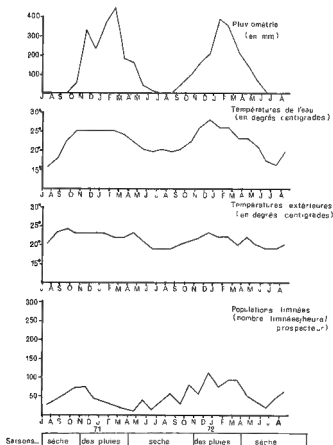
- les facteurs climatiques étudiés, à savoir : pluviométrie, température de l'air, température de l'eau, jouent un grand rôle dans la dynamique saisonnière des populations de limnées. Pour les limnées des rizières, les pratiques culturales ont également une grande importance, ainsi que le réensemencement en mollusques à partir des canaux d'irrigation. Dans les canaux d'irrigation, le nettoyage et la mise à sec périodiques des canaux est un facteur limitant non négligeable.

Les variations saisonnières des populations de limnées, bien qu'étudiées globalement sur de grandes surfaces, nous permettent déjà de prévoir, en rapport avec la dynamique de l'infestation parasitaire des mollusques, les grandes périodes d'infestation des Bovins, donc les périodes de prophylaxie à mettre en œuvre dans le Moyen-Ouest de Madagascar.

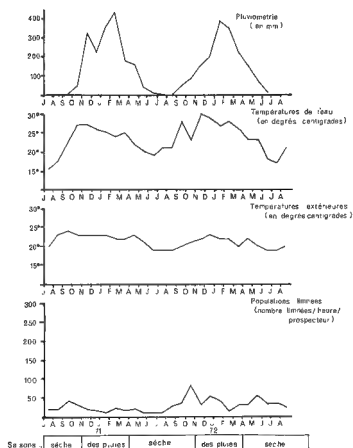
Par ailleurs, ces premiers résultats pourraient nous servir de base à une étude écologique plus poussée de *Lymnaea natalensis*.



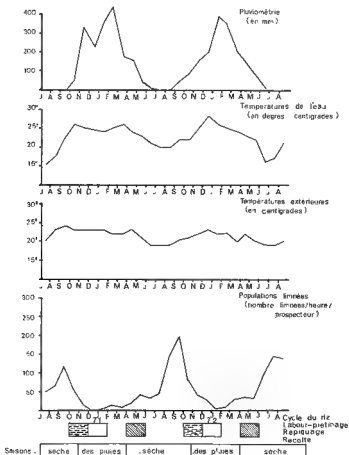
# Population De Limnées Dans Les Canaux D'irrigation Et Facteurs Du Milieu



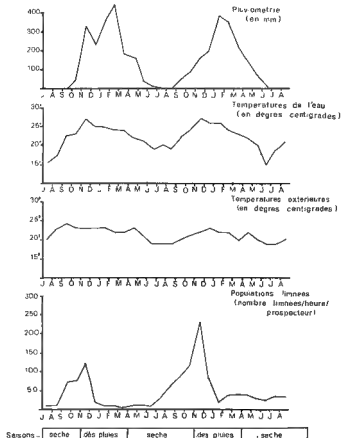
# Population de Limnées dans les Bassins et Mares et Facteurs Du Milieu



# Population De Limnées Dans Les Rizieres Et Facteurs Du Milieu

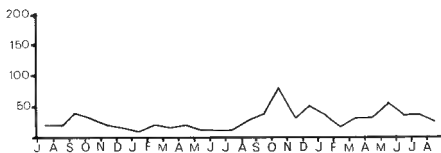


# Population De Limnées Dans Les Ruisseaux Et Facteurs Du Milieu

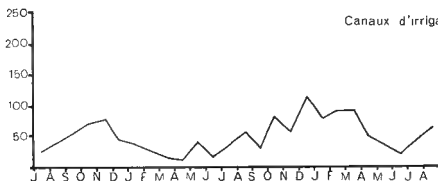


# **Variations Saisonnières Des Populations De Limnées Suivant Les Différents Types De Milieu**

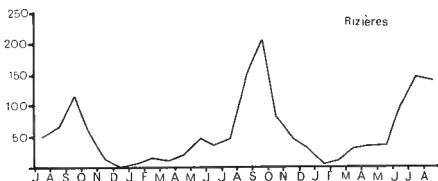
Bassins - Mares



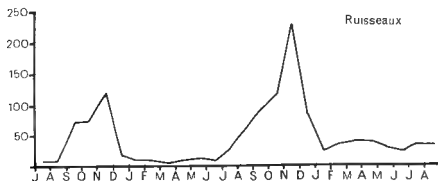
Canaux d'irrigation



Rizières



Ruisseaux



Saisons

seche	des pluies	. seche	des pluies	. seche
-------	------------	---------	------------	---------

## ESTIMATION DES POPULATIONS DE LIMACES

par A. SOL TH (1)

### RESUME

#### METHODES ABSOLUES

Exigées en recherches pour connaître le nombre exact de limaces par unité de surface. Elles sont souvent contraignantes :

- étude directe de la surface du sol. Donne de bons résultats pour l'étude des limaces de surface ;
- lavage de sol suivi de la submersion. Seule méthode qui permet de récupérer les œufs. Méthode de référence ,
- inondation du sol - bien adaptée mais on ne peut récupérer les œufs ;
- inondation par l'eau chaude. Ne donne pas de bons résultats pour les sols cultivés.
- méthode de capture-recapture peut être utilisée pour étudier la répartition des limaces.

#### TAILLE DES ECHANTILLONS

Une profondeur de 10 cm en prairie et 20-25 cm en sols labourés donne de bons résultats pour une surface de 0,1 ou 0,05 m<sup>2</sup>. Le nombre d'échantillons qui semble convenable est compris entre 12 et 18.

#### METHODES RELATIVES

Méthodes plus rapides et plus commodes donnent une évaluation de l'activité des populations de limaces. Nous utilisons le piégeage, l'emploi des appâts et l'évaluation de l'activité alimentaire. Elles ont été utilisées pour prévoir les dégâts.

### SUMMARY

This report completes the review of 1964

#### ABSOLUTE METHODS

More accurate and necessary for research purposes to know the numbers of slugs per unit area. They are often laborious :

- searching the ground surface. Gives good results for the study of surface slugs ;
- soil washing and floating is the only one method permitting to recover the eggs. Each other method must be checked by this one ;
- flooding. Very suitable, but it is impossible to recover the eggs ;
- flooding with hot water. Quicker but not better as with cold water. Not suitable in arable soils ;
- mark, release and recapture can be suitable for the study of the distribution in a population of slugs.

(1) Department of Biological Sciences, City of London Polytechnic London, EC3N 2EY.

## SAMPLING DEPTH AND SAMPLE SIZE

A sampling depth of 10 cm is adequate for grassland and of 20-25 cm for arable soil with a sampling area of 0,1 or 0,05 m<sup>2</sup>. A number of sampling units between 12 and 18 is very suitable.

## RELATIVE METHODS

They are quicker and more useful, give essentially a measure of the slug activity. We use the trapping, the baiting and the measurement of feeding activity. They are used for a foreseeing of the damages.

\* \* \* \*

Les méthodes utilisées pour estimer les populations de limaces furent passées en revue par South (1964). Il y a eu de nombreuses recherches depuis et l'objet de la présente publication est de décrire les méthodes principales utilisées pour une estimation des populations et les changements qui sont arrivés depuis 1964.

Les méthodes d'échantillonnage peuvent être divisées commodément en :

- a) les méthodes absolues, où une unité spécifique du milieu est échantillonnée et la population exprimée par l'unité de surface ;
- b) les méthodes relatives, où la population n'est pas exprimée en fonction de l'unité d'habitat.

Alors que les méthodes absolues sont généralement plus correctes et nécessaires aux buts de la recherche, les techniques impliquées sont laborieuses et prennent beaucoup de temps, en particulier l'analyse des échantillons au laboratoire pour retrouver les limaces et les œufs. Les méthodes relatives sont beaucoup plus utiles en vue des travaux d'avertissements qui requièrent une estimation approximative obtenue par des méthodes plus rapides et moins laborieuses. Ces techniques demandent souvent un équipement simple et procurent généralement un grand nombre de limaces sur lequel on peut travailler. Les méthodes absolues doivent être utilisées pour étalonner et comparer les méthodes relatives d'estimation.

## METHODS ABSOLUES

### A) L'EXAMEN DE LA SURFACE DU SOL

Barnes et Weil (1944) ont montré que des recherches nocturnes programmées sur une route pré-établie ne donnent pas une image précise et représentative des populations de limaces. Les limaces de petite taille et de couleur obscure passant souvent inaperçues. Crawford-Sidebotham (1972) montre que cette méthode est valable pour l'étude des effets du climat sur l'activité des limaces à la surface du sol. South (1964) montre que des unités d'échantillonnage de 0,1 m<sup>2</sup> sous-estiment d'une manière significative la population. Le tableau 3, tiré d'un travail récent sur une culture de pommes de terre, montre que ce type d'examen exagère la proportion des *Agriolimax reticulatus* séjournant en surface. Cette méthode est généralement peu utilisée pour l'estimation des populations de limaces mais elle peut être applicable dans certains milieux où le sol est compact et où les limaces tendent à rester en surface. Mordan (communication personnelle) trouve que 75 % et de 72 % à 85 % des limaces peuvent être retrouvés par l'examen d'échantillons respectivement en forêts et en prairies tout au long de l'année. L'efficacité de la recherche est étalonnée par un lavage du sol.

### B) LE LAVAGE DU SOL

Une méthode de lavage du sol fut décrite par South (1964). Des échantillons de sol sont brisés au jet d'eau, sur un ensemble composé de trois tamis (38 x 38 cm), le plus petit possède 12 mailles au centimètre. Chaque tamis avec ses résidus est trempé dans une solution de sulfate de magnésium ( $d = 1,17 - 1,20$ ). La matière organique flotte à la surface et les limaces ainsi que leurs œufs sont enlevés. L'efficacité de cette méthode peut être étalonnée par l'addition d'un nombre connu de limaces et d'œufs avant le lavage. Plusieurs auteurs ont utilisé cette méthode, Hunter (1968), Pinder (1969) et Warley (1970). Le tableau 1 indique quelques taux de récupération. Les résultats montrent un taux de récupération important pour les grandes limaces (25 mg) et en deux occasions (South 1964 et Warley 1970) aussi pour les œufs et les petites limaces. Hunter et Warley suggèrent que le faible taux de récupération pour les œufs d'*Arion hortensis* est dû à ce qu'ils peuvent être brisés par le jet d'eau. Hunter montre aussi que les limaces perdent du poids, surtout à cause de la perte

du mucus, pendant le lavage du sol. Cette technique est certainement la plus précise de celles qui sont accessibles pour estimer les populations de limaces et c'est la seule méthode permettant de retrouver les œufs. C'est une technique utile à employer en association avec d'autres méthodes (South, 1965) ou pour étalonner l'efficacité d'autres techniques quoiqu'elle donne beaucoup de travail et qu'elle demande un matériel spécial.

#### C) L'IMMERSION

La première description en a été faite par South (1964), elle est basée sur l'observation du fait que les limaces grimpent vers le haut lorsqu'elles sont immergées dans l'eau. Des échantillons de gazon sont placés de chat dans des poubelles en plastique au couvercle bien ajusté. Ils sont progressivement immergés pendant une période de quatre à cinq jours. Les limaces présentes se rassemblent à l'extrémité supérieure du gazon où elles sont collectées. Cette méthode fut utilisée initialement pour des échantillons de gazon mais Hunter (1968) et Warley (1970) adaptèrent la technique aux échantillons de sol arable. Le tableau 2 compare le taux de récupération obtenu par plusieurs auteurs ayant employé l'immersion, dans chaque cas le nombre de limaces non extraites fut connu par un lavage ultérieur du sol. On peut voir que le taux de récupération est particulièrement élevé avec une seule exception, et ceci fut corrigé grâce à une adaptation de la technique au cas des sols arables (South, 1964). Les techniques d'immersion donnent moins de travail et une estimation satisfaisante des populations de limaces. Cependant on ne récupère pas les œufs et cela prend un temps assez long pour compléter.

#### D) METHODES IMPLIQUANT LE CHAUFFAGE DES ÉCHANTILLONS

Nous avons testé (South, 1964) les méthodes basées sur l'action répulsive de l'eau chaude (Milne, Coggins et Laughlin, 1958). Cette méthode semble moins efficace que l'immersion dans l'eau froide. Warley (1970) utilise une forme modifiée de cette technique et pour les échantillons de gazon obtient des taux de récupération similaires à ceux obtenus par immersion dans l'eau froide. Les résultats pour les échantillons de terre arable sont un peu plus bas que ceux correspondant aux taux obtenus par immersion et il conclut que des modifications ultérieures sont nécessaires dans ce cas. L'avantage de l'emploi de la chaleur est d'avoir une extraction plus rapide (4 - 6 heures).

#### E) MARQUAGE, LACHER ET RECAPTURE

On a marqué les limaces à l'aide d'aliments contenant du  $^{32}\text{P}$  (Newell, 1965) ou de l'agar agar coloré avec un colorant vital, le rouge neutre (South, 1965). On peut voir le colorant à travers du pied, même chez les individus très pigmentés, il se maintient sur le terrain jusqu'à trois semaines et plus. Newell utilise le  $^{32}\text{P}$  pour estimer les populations de *Agriolimax reticulatus* et conclut que ceci donne quelques indications sur la taille de la population quoique le seuil de confiance à 95 % de cette méthode soit assez étendu (entre 32 et 57 % de l'estimation). Il trouve que les limaces marquées peuvent être identifiées même un mois après le marquage. Hunter (1968) utilisant des limaces marquées au rouge neutre, trouve que la méthode de marquage, capture, recapture, tend à sous-estimer les populations des trois espèces étudiées.

Le marquage au rouge neutre a été utilisé avec succès pour étudier la dispersion des limaces (South, 1965, et Pinder, 1969). Pinder a aussi utilisé cette technique pour démontrer qu'il y a une certaine migration de limaces vers les champs de pommes de terre et qui a pour origine les friches adjacentes.

### PROFONDEUR ET TAILLE DE L'ÉCHANTILLON

#### A) PROFONDEUR DE L'ÉCHANTILLON

South (1964) a montré qu'un échantillonnage sur 10 cm de profondeur était suffisant en prairie et, la plupart du temps, il en était de même en terre arable (un champ de blé) lorsque *A. reticulatus* seule est présente. Cependant il est nécessaire de descendre jusqu'au niveau du fond du sillon (27 cm) après un labour. Hunter (in Runham et Hunter, 1970) montre aussi que cette espèce est présente la plupart du temps dans les trois pouces formant la couche supérieure du sol tout au long de l'année et en terre arable, mais que *Milax budapestensis* et *Arion hortensis* peuvent se rencontrer plus profondément dans le sol. On ne trouve pratiquement plus de limaces à une profondeur supérieure à 30 cm et Hunter ainsi que Pinder (1969) adoptent un échantillon profond de 30 cm en terre arable. Warley (1970) utilise une profondeur d'échantillonnage de 10 - 12,5 cm en prairie et de 25 cm en terre arable. Il conclut que ces derniers peuvent être réduits de moitié (12,5 cm) pour les prélèvements effectués avant labour.

## B) TAILLE DE L'ECHANTILLON

South, Hunter et Pinder sont d'accord sur le fait qu'un échantillon de 30 x 30 cm est correct aussi bien en prairie qu'en terre arable. Warley obtient des résultats satisfaisants avec un échantillon de 22,5 x 20 cm. On a testé des échantillons de taille inférieure (South, 1964 ; Hunter, 1965). Les auteurs trouveront que les plus petits échantillons, allant jusqu'à la carotte de 6,3 cm, ne donnent pas un nombre suffisant de limaces par échantillon.

## C) TAILLE DU PRELEVEMENT

Dans la plupart des cas le nombre d'échantillons est limité au matériel disponible. South et Hunter utilisent 12 échantillons par prélèvement et Pinder 16 échantillons alors que Warley utilise 17 échantillons pour les échantillonnages normaux et entre 24 et 60 échantillons pour des échantillonnages particuliers.

## D) CONCLUSIONS

Une profondeur de 10 cm pour l'échantillon en prairie et entre 25 et 30 cm en terre labourée apparaît adéquate pour l'échantillonnage des limaces quoique dans certaines conditions cette profondeur peut être considérablement réduite. L'échantillon type semble se situer entre 0,10 et 0,05 m<sup>2</sup>. Au-dessus de cette taille les échantillons deviennent introuvables, et au-dessous, on récupère trop de limaces pour une étude réussie des populations. La taille du prélèvement est limitée par les conditions matérielles. Mais pour un prélèvement normal il semble que 12 à 18 échantillons donnent totalement satisfaction. La taille du prélèvement dépendra de la portion de milieu qui sera étudiée et dans bien des cas il sera préférable d'effectuer un prélèvement plus important. Hunter, Pinder et Warley divisent l'échantillon horizontalement en sous-échantillons pour obtenir plus d'informations sur la distribution verticale et pour faciliter la récupération des limaces.

## METHODES RELATIVES

La plupart des méthodes relatives utilisées pour échantillonner les limaces ont employé le piégeage, les appâts ou une combinaison des deux types de méthodes. Ces méthodes sont essentiellement des mesures de l'activité des limaces et Webley (1964) estime que le climat intervient pour à peu près 70 % dans les variations journalières du nombre de limaces attrapées grâce aux appâts. Crawford-Sidebotham (1970) confirme cette sensibilité différentielle des limaces aux appâts.

### A) LE PIEGEAGE

Il implique la collecte de limaces par unité d'abri, par exemple, planches, tuiles ou sacs. South (1964) qui utilise des tuiles de toit, montre que le piégeage n'est pas une méthode qui permet d'estimer les populations de limaces en prairie. Il trouve aussi que la proportion de limaces mûres est exagérée. Il n'y a pas de différence significative entre les différents pièges. Hunter (1968) obtient des résultats similaires sur des champs labourés et il trouve que le piégeage augmente la proportion de limaces de surface, c'est-à-dire *A. reticulatus*, par rapport aux autres, si on compare les résultats avec ceux du lavage. De récentes études sur un champ de pommes de terre (tableau 3) montre que les conclusions d'Hunter s'appliquent aussi aux appâts. Lyth (1972) compare le piégeage et l'emploi d'appâts et trouve que le piégeage restitue trop peu de limaces pour être de quelque valeur.

### B) LES APPATS

Des appâts empoisonnés à base de métaldéhyde ont été employés pour estimer une population de limaces (Thomas, 1944) et leur activité (Webley, 1964). Plus récemment on a utilisé des appâts au méthiocarbe (Gould et Webley, 1972). Les appâts sont exposés à l'air libre ou recouverts de petites tuiles. Webley (1963) trouve qu'un plus grand nombre de limaces sont attrapées lorsque les appâts sont laissés à l'air libre que lorsqu'ils sont abrités, et qu'un plus grand nombre de limaces se trouve pris sur des verres noirs que sur des verres clairs.

### C) MESURE DE L'ACTIVITE D'ALIMENTATION

L'estimation de l'activité d'alimentation chez la limace a été effectuée en exposant une certaine quantité de nourriture, par exemple, des graines de blé (Duthoit, 1961) et des tubercules de pomme de terre (Stephenson, 1967) à l'attaque des limaces sur le terrain. Quoique cette méthode implique

un certain nombre de difficultés, par exemple, si d'autres animaux mangent cette nourriture, les résultats ont été utilisés pour mesurer l'activité d'alimentation à différents niveaux du sol. Le potentiel alimentaire peut être calculé et utilisé pour prédire le niveau probable de dégâts.

#### D) CONCLUSIONS

Alors que les méthodes relatives ne donnent pas une estimation précise de la population par unité de surface, plusieurs auteurs montrent qu'elles sont intéressantes dans certains cas. Warley (1970) compare plusieurs méthodes relatives avec les résultats donnés par la méthode de l'immersion. Les méthodes comprennent des appâts laissés à l'air libre (des granulés commerciaux anti-limaces), des appâts couverts par des boîtes de fer blanc, les boîtes seules et des planches de bois avec et sans granulés. Il suggère que, dans un but pratique, trois types de densités de limaces adultes soient distingués : basse, moyenne et haute et il montre que les méthodes relatives sont probablement de bons indicateurs de la catégorie à laquelle la population étudiée appartient. On suppose que les catégories peuvent être mises en parallèle avec une échelle des dégâts prévus dans les cultures.

Gould et Webley (1972) utilisent avec succès leurs trois méthodes relatives pour comparer les effets de granulés de méthiocarbe et de métaldéhyde appliqués aux parcelles avant de semer du blé d'hiver. On utilise les techniques suivantes :

- a) comptage des limaces mortes à la surface du sol après traitement aux granulés ;
- b) des boîtes de Pétri perforées, contenant chacun 10 grains de blé collés à la partie inférieure (Hunter, 1969). On calcule l'activité d'après le nombre de grains endommagées après plusieurs jours ;
- c) des appâts au méthiocarbe couverts d'une tuile.

Lyth (1972) trouve que les appâts donnent des résultats satisfaisants pour comparer les populations de limaces dans des zones voisines en forêt, sous taillis et en prairie. Il assure que les conditions climatiques sont suffisamment identiques dans des zones voisines pour que l'activité soit elle aussi d'un niveau comparable.

Tableau 1 - Taux de récupération exprimé en pourcentage par la méthode du lavage de sol pour des populations d'œufs et de limaces connues

Auteurs		Espèces				
		A.r.	A.i.	A.f.	A.h.	M.b.
South (1964)		Entre 98 et 100			--	--
Hunter (1968)	12,5 g	100	--	--	100	100
"	12,5 g	63	--	--	67	86
"	œufs	91	--	--	15	100
Warley (1970)	25 g	100	--	100	100	--
"	25 g	95	--	100	100	--
"	œufs	96	--	98	65	--

A r : *A. reticulatus* (Müll)

A.i. : *A. intermedius* Norm.

A f : *A. fasciatus* (Nilss)

A h. : *A. hortensis* Fér. (Hazay)

M.b. : *M. budapestensis* (Hazay)

Tableau 2 - Comparaison du taux de récupération obtenu par plusieurs auteurs utilisant la technique de l'immersion dans l'eau froide (1)

Auteur	Habitat	Espèces				
		A.r. (3)	A.h.	A.i.	A.f.	M.b.
South (1964)	Gazon	99	--	81	94	--
	Terre arable gros labour	92	--	54	80	--
	Terre arable fin labour (2)	100	89	--	--	100
Hunter (1968)	Terre arable fin labour	92	88	--	--	89
	Gazon	99	97	--	98	--
Warley (1970)	Terre arable	96	89	--	97	--

(1) Les limaces non extraites par l'immersion sont récupérées plus tard par la technique du lavage du sol.

(2) Technique modifiée pour réduire la profondeur - voir South (1964).

(3) Abréviations - voir tableau 1.

Tableau 3 - Comparaison du spectre spécifique de quatre types différents de prélèvements, pris sur un champ de pommes de terre (Novembre 1968)

Type d'échantillon	Espèces (% composition)				
	A.r.	A.h.	A.f.	M.b.	A.l. (1)
Lavage de sol (unité 30×30×30 cm)	16.5	67.7	9.5	5.5	0.8
Comptage à la surface (unité 30×30 cm)	50.5	37.9	2.1	0.0	9.5
Tri manuel sur sondage (unité 30×30×30 cm)	16.9	59.9	4.9	18.3	0.0
Piégeage (granulés méta)	47.3	37.0	7.3	5.5	3.0

(1) Abréviations - voir tableau 1. A.l. : *Agriolimax laevis* (Müll).



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BARNES, H. F. and WEIL, J. W., 1944. - Slugs in gardens: their numbers, activities and distribution. Part I. *J. Anim. Ecol.*, **13** : 140-75.
- CRAWFORD-SIDEBOTHAM, T. J., 1970. - Differential susceptibility of species of slugs to metaldehyde/bran and to methiocarb baits. *Oecologia (Berl.)*, **5** : 303-24.
- CRAWFORD-SIDEBOTHAM, T. J., 1972. - The influence of weather upon the activity of slugs. *Oecologia (Berl.)*, **9** : 141-54.
- DUTHOIT, C. M. G., 1961. - Assessing the activity of the field slug in cereals. *Pl. Path.*, **10** : 165.
- GOULD, H. J. and WEBLEY, D., 1972. - Field trials for the control of slugs in winter wheat. *Pl. Path.*, **21** : 77-82.
- HUNTER, P. J., 1968. - Studies on slugs of arable ground I. Sampling methods. *Malacologia*, **6** : 369-77.
- HUNTER, P. J., 1969. - Slugs and their control. *Proc. 6th Br. Insecticide and Fungicide Conf.*, **3** : 715-19.
- LYTH, M., 1972. - Aspects of the spatial distribution of slugs with some reference to their water relations. Ph. D. Thesis. University of London.
- MILNE, A., COGGINS, R. E., and LAUGHLIN, R., 1958. - The determination of numbers of leathery jackets in sample turves. *J. Anim. Ecol.*, **27** : 125.
- NEWELL, P. F., 1965. - Recent methods of marking invertebrate animals for behavioural studies. (Abstract) *Anim. Behav.*, **13** : 579.
- PINDER, L. C. V., 1969. - The biology and behaviour of some slugs of economic importance, *Agriolimax reticulatus*, *Arion hortensis* and *Milax budapestensis*. Ph. D. Thesis University of Newcastle-upon-Tyne.
- RUNHAM, N. W. and HUNTER, P. J., 1970. - Terrestrial slugs. Hutchinson : London.
- SOUTH, A., 1964. - Estimation of slug populations. *Ann. appl. Biol.*, **53** : 251-8.
- SOUTH, A., 1965. - Biology and ecology of *Agriolimax reticulatus* (Müll.) and other slugs : spatial distribution. *J. anim. Ecol.*, **34** : 403-19.
- STEPHENSON, J. W., 1967. - The distribution of slugs in a potato crop. *J. appl. Ecol.*, **4** : 129-35.
- THOMAS, D. C., 1944. - Field sampling for slugs. *Ann. appl. Biol.*, **31** : 163-4.
- WARLEY, A. P., 1970. - Some aspects of the biology, ecology and control of slugs in S. E. Scotland with particular reference to the potato crop. Ph. D. Thesis. University of Edinburgh.
- WEBLEY, D., 1963. - Experiments with slug baits in 1959. *Pl. Path.*, **12** : 19.
- WEBLEY, D., 1964. - Slug activity in relation to weather. *Ann. appl. Biol.*, **53** : 407-14.



## DENOMBREMENT DES LIMNEES

par R. MOENS (1)

### RESUME

Au cours de notre étude écologique sur *L. truncatula* O.F. Muller nous avons développé une méthode de dénombrement du mollusque dans ses habitats typiques. Cette technique est basée sur le nombre d'individus extraits d'un échantillon (1 kg) obtenu par 30 prélèvements effectués au hasard dans le matériel servant de support au mollusque.

Les prélèvements se font par grattage du fond au moyen d'une truelle ou lorsque le sol est trop liquéfié au moyen d'une petite époussette (diamètre 10 cm).

Le traitement statistique des chiffres obtenus par l'analyse séparée des 30 prélèvements a permis de calculer pour 7 échantillons l'ordre de grandeur de la variation du nombre d'individus récoltés. La méthode permet de différencier ainsi 5 degrés d'infestation : très forte ( $> 150$  individus), forte (60 à 150), moyennement forte (15 à 60), moyennement faible (6 à 15) et faible ( $< 6$ ).

Si la technique semble être parfaitement adaptée à l'échantillonnage des prairies et des zones bourbeuses, elle offre certaines difficultés en milieu aquatique. Pour ces terrains profonds et constamment submergés, nous avons développé une nouvelle technique qui consiste à prélever les échantillons au moyen d'une sonde cylindrique (diamètre : 17 cm) que l'on enfonce légèrement dans le fond boueux du milieu ; le contenu du cylindre est transvasé dans un tamis à fines mailles (0,7 mm) et analysé ensuite au laboratoire.

Des essais effectués dans un complexe herbager des polders maritimes ont démontré que 12 sondages suffisent pour caractériser les peuplements malacologiques dans un type déterminé de fossés.

### SUMMARY

A method has been worked out in order to evaluate populations of *L. truncatula*, O.F. Muller in its typical habitats.

This technique is based on the number of molluscs found in a one-kg sample of thirty scrapes taken at random by means of a trowel or by means of a 10-cm diameter net in case of liquefied substrates.

The statistical treatment of data from the thirty scrapes analyzed separately and carried out for seven samples lead to the following classification as for a degree of infestation is concerned.

very high	(150 individuals)	rather low (6 - 15 individuals)
high	(60 - 150 individuals)	low (6 individuals)
rather high	(15 - 60 individuals)	

(1) Station de Zoologie appliquée, Gembloux.

This technique is suitable to the sampling of meadows and muddy areas. However some difficulties arise as regards aquatic media.

For these deep and constantly submerged grounds a new technique has been worked out. This involves the use of a 17-cm diameter cylindrical auger which is gently introduced into the bottom of the muddy area ; the auger content is transfused in a 0.7-mm mesh sieve and analyzed in the lab.

Trials carried out in the sea polder region have proved that 12 auger holes are adequate to characterize malacological populations in pasture ditches.

\* \* \* \*

Nos études écologiques sur *Lymnaea truncatula* Müller, hôte intermédiaire de la Fasciolose, ont fait apparaître l'importance des techniques d'examen des terrains. Parmi ces techniques, certaines ont été mises au point pour déceler les gîtes à *L. truncatula* ; d'autres, plus perfectionnées, permettent d'obtenir une certaine estimation du potentiel des limnées présentes dans l'aire d'échantillonnage.

En ce qui concerne la recherche des gîtes à *L. truncatula*, nos connaissances acquises actuellement dans ce domaine, nous permettent de les localiser assez rapidement.

D'une manière générale, la présence de la limnée dans un milieu est liée à deux facteurs essentiels : l'humidité du substrat et la luminosité. Nous avons trouvé la limnée sur des terrains où le taux d'humidité du substrat reste supérieur au "field capacity" pendant une période d'au moins trois mois au cours de la saison. De plus, la présence de la limnée requiert une luminosité minimum qui est nécessaire au développement des algues. Cette exigence en lumière est favorisée soit par le piétinement du terrain soit par l'inondation superficielle du substrat. Par contre, la haute végétation permanente des hydrophytes et les eaux profondes empêchent la pénétration de la lumière au niveau du substrat. Le milieu doit aussi offrir à la limnée les refuges qui lui seront nécessaires pour résister à la sécheresse et au gel. A cet égard, les petites cuvettes, créées par le piétinement du bétail ainsi que les fossés jouent un rôle déterminant pour la survie de *L. truncatula*.

D'une façon générale, nous retrouvons les gîtes à *L. truncatula* sur quatre types de terrains :

1°) les sources, les suintements et autres zones bourbeuses,

2°) les fossés superficiels et les rigoles,

3°) les prairies humides souffrant d'un excès d'eau soit qu'elles se situent sur schistes horizontaux ou autres couches imperméables à faible profondeur (terre d'argile ou couche ferrugineuse) soit qu'elles soient établies dans les dépressions ou dans les fonds de vallées à drainage insuffisant soit encore que le terrain fasse partie d'un sol remanié ou comaté,

4°) les zones de transition associées aux mares et marécages.

Ces aires d'infestation sont donc facilement délimitées d'après des critères hydrologiques et phytosociologiques du terrain.

Parmi les méthodes visant le dénombrement des *L. truncatula* sur les terrains infestés, plusieurs techniques ont été décrites, certaines de ces techniques sont basées sur le comptage direct des individus soit pendant un laps de temps bien déterminé soit sur une série de petits carrés répartis au hasard sur l'ensemble de l'aire d'échantillonnage. (Roberts, 1950), (Bednartz, 1960), (Crossland et al., 1967), (Ollerenshaw, 1967).

Les techniques de dénombrement visuel des limnées sur le terrain se heurtent à certains inconvénients mettant en cause la valeur même de la technique : la perceptibilité de la limnée sur le terrain varie énormément suivant la nature du terrain (humidité du substrat, recouvrement végétal, degré de piétinement) et le moment d'observation ; il faut aussi admettre que le dénombrement des individus dépend beaucoup de leur taille car il est évident que les petits individus ne peuvent être dénombrés au même degré que les sujets adultes. Enfin, les résultats peuvent varier considérablement selon la perspicacité de l'opérateur.

Une autre série de techniques consiste à prélever des échantillons du sol à certains endroits et de dénombrer les limites extraites du matériel récolté.

Ross et al. (1968) ont utilisé une méthode consistant à prélever un échantillon du sol boueux par 5 à 10 raclages de la surface au moyen d'une boîte de Pétri ; cette technique a été perfectionnée en prélevant le matériel au moyen d'une sonde et en remplaçant le tamisage par un nouveau système d'extraction mécanique des limnées (Morphy, 1970, communication personnelle).

Depuis 1960, nous avons mis au point pour nos recherches une technique spéciale dont celle de Ross et al. s'est rapprochée assez étroitement. L'importance des populations de *L. truncatula* est estimée d'après le nombre d'individus extraits d'un échantillon (1 Kg) récolté à 30 endroits différents du terrain et prélevé au hasard parmi le matériel servant de support au mollusque. Les prélèvements sont effectués par grattage du sol (10 cm de long et 5 cm de large) effectué au moyen d'une truelle. Sur les terrains très humides, en présence d'une boue liquéfiée ou dans de petites poches d'eau, il y a avantage à râcler le fond avec une époussette (diamètre 10 cm) que l'on manipule de la même façon que la truelle.

Les 30 prélèvements se font au hasard sur l'ensemble de l'habitat étudié ; toutefois, afin d'éviter une trop forte dispersion des endroits de prélèvement, il a été convenu de ne pas dépasser pour un même échantillon la surface de 30 ares. Pour les grandes surfaces, l'ensemble de l'habitat a été subdivisé en plusieurs aires d'échantillonnage comportant chacune une superficie maximum de 30 ares. Les échantillons sont tamisés à l'aide d'un jet d'eau sur un jeu de 4 tamis (diamètre : 30 cm) dont les mailles mesurent respectivement 4,0 - 2,0 - 1,0 et 0,7 mm.

Les mollusques sont récoltés sur les différents tamis et les espèces sont identifiées. Les spécimens de *L. truncatula* font l'objet d'un examen spécial : relevé du nombre et des dimensions de la coquille, examen de l'hépatopancréas pour y dépister la présence des redies et des cercaires de la Douve.

Pour connaître l'ordre de grandeur de la variation du nombre de limnées obtenu par cette technique d'échantillonnage, nous avons analysé séparément chacun des 30 prélèvements pour une série de 7 échantillons ; ceux-ci provenaient de différents habitats du même type (taches humides sur prairie) et dont la surface était comprise entre 25 et 30 ares.

Les résultats d'analyse ont permis de calculer pour chacun de ces 7 échantillons le nombre moyen ( $\bar{x}$ ) d'individus récoltés par une seule prise du matériel, l'écart-type ( $\sigma$ ) et les limites de confiance (niveau de 0,05) de cette moyenne et enfin les limites de variation du nombre total d'individus relevé sur l'ensemble de l'échantillon (tableau 1).

Pour l'échantillon n° 1, prélevé dans une zone fortement infestée par le mollusque, nous avons obtenu une moyenne de 3,5 individus par prise soit au total 104 individus, les limites de confiance correspondant à l'écart-type 3,2, sont de 2,3 à 4,7 ce qui correspond à une variation du nombre total d'individus pour l'échantillon allant de 68 à 140 unités.

Il ressort du même tableau que pour les échantillons 2, 3 et 7 ayant fourni respectivement 33, 34 et 35 individus, la variabilité oscille entre 15 et 51 pour l'échantillon 2, entre 19 et 49 pour l'échantillon 3 et entre 25 et 45 pour l'échantillon 7.

Un résultat analogue fut enregistré pour l'échantillon 6 dont l'effectif de 27 individus peut varier entre 15 et 39.

Enfin, pour les échantillons 4 et 5, contenant respectivement 15 et 14 individus, la variation se situe entre 6 et 24 pour le premier et entre 4 et 24 pour le second.

Cette méthode d'échantillonnage permet donc de distinguer sur le terrain 5 degrés d'infestation :

- infestation très forte : nombre d'individus supérieur à 150 ;
- infestation forte : nombre d'individus aux environs de 100 avec une variabilité entre 60 et 150 ;
- infestation moyennement forte : nombre d'individus plus ou moins 35 avec une variabilité entre 15 et 50 ;
- infestation moyennement faible : nombre d'individus plus ou moins 15 avec une variabilité entre 6 et 25 ;
- infestation faible : présence d'un petit nombre d'individus (6) ou de traces d'individus (coquilles, pentes).

La méthode des 30 prises est d'une exécution très pratique sur les prairies humides et dans les zones bourbeuses autour des suintements, des fossés et des marécages ; elle est parfaitement adaptée pour échantillonner sur les terrains de transition entre le milieu terrestre et le milieu aquatique (habitats les plus propices à *L. truncatula*) et pour lesquels elle semble constituer la seule méthode pratiquement applicable.

Toutefois, nous avons été amenés à rechercher une seconde technique d'échantillonnage lorsque nous avons dû opérer sur des terrains poldériens où les populations malacologiques sont concentrées dans les multiples fossés de drainage. Les prélèvements du matériel par râclage du fond est encore possible en bordure des fossés, cependant pour effectuer des dénombrements de mollusques dans la partie profonde de ces habitats, nous avons eu recours à une autre technique. La prise d'échantillons est faite au moyen d'une sonde cylindrique (diamètre : 17 cm, longueur : 50 cm) que l'opérateur enfonce légèrement dans le fond boueux du fossé. Le contenu du tuyau (eau, boue du fond et plantes aquatiques) est ensuite transvasé sur un tamis (maille 0,7 mm) puis examiné au laboratoire pour en déterminer la composition malacologique.

Nous avons étudié par cette méthode le peuplement malacologique de trois fossés identiques et parallèles dans une prairie située dans les Polders à Bulskamp (ancien polder maritime).

Ces fossés sont caractérisés par 3 zones longitudinales bien distinctes :

1°) une zone marginale peu profonde, élargie (2 à 3 m), fortement piétinée et couverte d'une dense végétation herbacée appartenant à l'association du *Glycerieto-Sparganietum neglecti*.

2°) une zone centrale d'une largeur de 2 m., submergée et plus profonde (40 à 45 cm) dans laquelle nous avons retrouvé les représentants de l'*Hydrochareto-Siratiotietum*,

3°) une bande assez étroite (0,50 m.) constituant le bord abrupt du fossé le long duquel s'est établie une haute végétation hygrophile du *Scirpeto-Phragmitetum*.

L'échantillonnage a consisté à prélever au hasard 12 échantillons (4 par fossé) dans la partie centrale (zone 2), la technique de la sonde étant réservée exclusivement à des zones submergées et profondes.

Pour tester la validité de cette méthode, nous avons comparé les résultats de cet échantillonnage avec ceux obtenus par des prélèvements identiques effectués dans les mêmes fossés.

Les résultats de ces deux examens successifs sont indiqués dans le tableau 2 qui nous fournit pour les deux échantillonnages :

1°) le nombre moyen d'individus des différentes espèces de basomatophores retrouvés (- abondance A) ;

2°) le pourcentage d'individus de chaque espèce par rapport au nombre total retrouvé (dominance D) ;

3°) le pourcentage d'échantillons qui se sont révélés positifs pour chaque espèce (- constance C).

Le degré d'identité est apprécié en fonction de 3 index couramment utilisés pour comparer deux peuplements zoologiques :

- l'index de Jaccard (Ja) = identité des espèces,

- l'index de Renkonen (Re) = identité des dominances,

- l'index de Kulczynski (Ku) = identité des constances.

(Balogh, 1958).

Pour les 2 échantillonnages, nous avons retrouvé exactement les mêmes espèces de basomatophores (Ja = 100 %) et ceci dans un nombre pratiquement équivalent pour les espèces *Lymnaea peregra* Müller, *Lymnaea palustris* Müller et *Lymnaea truncatula* Müller.

Pour les autres espèces, on trouve une légère différence non significative (seuil de signification = 0,05).

Ce haut degré d'identité entre les peuplements des 2 échantillonnages est encore confirmé par les valeurs élevées des index Re (= 75,9 %) et Ku (= 2,8), montrant que la dominance et la constance des espèces ne se sont guère modifiées au cours de ces 2 opérations.

Les deux échantillonnages nous ont donc fourni chacun une idée similaire de la composition du peuplement malacologique au centre des fossés, cette composition est nettement dominée par deux espèces (*L. peregra* et *L. palustris*) associées à 3 autres espèces (*Tropidiscus planorbis* L., *Anisus leucostomus* Millet et *Armiger crista* L.) ; ces 5 espèces constituent les éléments constants d'une même association qui caractérise le peuplement des fossés des anciens polders. *L. truncatula* se comporte plutôt comme une espèce d'accompagnement qui s'est infiltrée occasionnellement dans la partie centrale des fossés.

Le développement de cette espèce est localisée dans la zone marginale des fossés (bande 1) où des populations denses de ce mollusque ont été mises en évidence par la technique d'échantillonnage des 30 prises.

## CONCLUSION

Nous disposons actuellement de deux techniques valables pour effectuer le dénombrement des limnées en milieu prairial. Le prélèvement par grattage du sol à 30 endroits différents constitue une méthode d'échantillonnage parfaitement adaptée pour les zones de transition entre le milieu terrestre et le milieu aquatique ; ces types de terrain sont généralement peuplés par *L. truncatula* et dans une moindre mesure par d'autres espèces de basomatophores telles que *A. leucostomus*, *L. peregra* et *L. palustris*. Il s'agit ici des associations malacologiques dans lesquelles *L. truncatula* apparaît comme l'espèce dominante. La seconde méthode d'échantillonnage, fondée sur le prélèvement du matériel au moyen de la sonde cylindrique convient pour étudier les peuplements malacologiques dominés par *L. peregra* et *L. palustris* sont généralement moins propices au développement de *L. truncatula*. La méthode s'est révélée d'un intérêt particulier pour examiner certaines régions telles que les Polders maritimes : appliquée en combinaison avec la première technique, elle nous permet de caractériser le peuplement malacologique des différents types de fossés poldériens et de déterminer exactement leur rôle dans la transmission de la Fasciolose.

\* \* \* \*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BALOGH J., 1958. - Lebensgemeinschaften der Landtiere Akademik - Verlag, Berlin, 560 p., 125 fig.
- BEDNARZ S., 1960. - On the biology and ecology of *Galba truncatula* Mull and cercariae of *Fasciola hepatica* L. in basin of the river Barycz. *Acta. Parasit. Pol.* 8, p. 279-287.
- MOENS R., 1970. - Techniques chimiques de destruction des gîtes à limnées dans les prairies. Colloque d'information scientifique sur l'assainissement des prairies par les traitements molluscicides, publication C.R.A., Gembloux, p. 32-55.
- MORPHY M. J., ROSS J. G. and TAYLOR S. M., 1968. - Problems of *Lymnaea truncatula* ecology in investigations of fascioliasis. *Malacologia*, 9, 1, p. 127-134.
- OLLERENSHAW C. B., 1967. - Some observations on the epidemiology and control of fascioliasis in Wales. *Second International Fluke Colloquium* Wageningen, Holland, p. 103-125.
- ROBERTS E. W., 1950. - Studies on the cycle of *Fasciola hepatica* (Linnaeus) and of its host *Lymnaea* (*Galba*) *truncatula* (Müller) in the field and under controlled conditions in the laboratory. *Ann. trop. Med. Parasit.* 44, p. 187-206.
- ROSS J. G. and O'HAGAN J., 1968 a. - *Lymnaea truncatula* population studies : Sampling Techniques. *J. Med. Lab. Technol.* 25, p. 112-116.

TABLEAU 1 - Analyse statistique des données obtenues par l'examen séparé de 30 prélèvements  
Travail effectué sur 7 échantillons provenant des différentes régions

N° échant.	Moyenne x	Ecart-type des moyennes	Limites de confiance des moyennes (niveau 0,05)			Nombre total d'individus avec les limites de variation		
1	3,5	3,2	2,3	-	4,7	104	+	36
2	1,1	1,5	0,5	-	1,7	33	±	18
3	1,1	1,3	0,6	-	1,6	34	+	15
4	0,5	0,9	0,2	-	0,8	15	+	9
5	0,5	0,9	0,1	-	0,8	14	±	10
6	0,9	1,0	0,5	-	1,3	27	+	12
7	1,2	0,9	0,8	-	1,5	35	±	10

TABLEAU 2 - Examen malacologique dans 3 fossés poldériens situés dans une prairie à Bulskamp

Recherche du degré d'identité entre deux peuplements malacologiques enregistrés sur le même terrain au cours de deux échantillonnages successifs effectués le 19-10-71

Chaque échantillonnage a consisté à prélever au hasard 12 échantillons au moyen d'une sonde cylindrique (diamètre : 17 cm ; hauteur : 50 cm)

Le tableau donne pour les deux échantillonnages : l'abondance (A), la dominance (D) et la constance (C) de dix espèces de Basomatophores trouvés dans les échantillons.

Le degré d'identité est apprécié d'après :

- l'index de Jaccard (Ja) - identité des espèces,
- l'index de Renkonen (Re) - identité de dominance
- l'index de Kulczynski (Ku) - identité de constance.

Espèces	Echantillonnage n° 1			Echantillonnage n° 2			Degré d'identité entre les 2 peuplements		
	A	D	C	A	D	C	Ja	Re	Ku
<i>Lymnaea peregra</i>	12,6	41,0	100	14,8	45,0	100	100	75,9	2,8
<i>Lymnaea palustris</i>	7,9	25,6	75	6,6	20,0	100			
<i>Tropidiscus planorbis</i>	1,5	5,3	66	4,0	12,1	86			
<i>Anisus leucostomus</i>	1,2	4,0	91	5,6	17,1	58			
<i>Armiger crista</i>	7,3	23,8	41	1,9	5,3	86			
<i>Lymnaea truncatula</i>	0,5	0,3	9	0,6	0,5	9			



## MISE EN EVIDENCE DE L'ACTION D'UN MOLLUSCICIDE DANS LA PREVENTION DE LA FASCIULOSE OVINE

par M. PITOIS (1)

### RESUME

Cette étude rend compte des essais concernant l'emploi d'un produit molluscicide sélectif sur *Limnaea truncatula*. Ce produit, le trifenmorph, est utilisé à la dose de 400 à 500 g de matière active à l'hectare.

On utilise une méthode indirecte pour connaître le résultat de ce traitement. Des prairies où existent *Limnaea truncatula* sont traitées, ensuite on y place des moutons pendant un certain temps. Ces moutons sont placés pendant 10 à 12 semaines en bergerie, puis sacrifiés. On compte le nombre de douves dans chaque foie et on compare aux témoins. La destruction des limnées permet une réduction significative de la maladie.

### SUMMARY

This study renders account of trials concerning the use of a selective molluscicide on *Limnaea truncatula*. This product, the trifenmorph, is used at the dose of 400 to 500 g/ha.

An indirect method is used to know the results of the treatment. Meadows, where *Limnaea truncatula* lives, are treated, then sheep are feeding in during a certain period. These sheep are then placed in a sheepfold during 10-12 weeks and sacrificed. Flukes are counted in each liver and compared with the liver of sheep feeded on non treated parts. The destruction of the Limnaeids permits a significant reduction of the disease.

\* \* \* \*

La lutte contre les maladies parasitaires de l'homme et des animaux a connu de grands progrès au cours du dernier demi siècle. Les maladies dues aux trematodes en particulier ont reculé devant le développement de nos connaissances et de nos moyens thérapeutiques.

Dans le cas de la fasciolose à *Fasciola hepatica*, les vétérinaires et les écologistes ont pu agir à la fois sur l'animal porteur et sur le mollusque hébergeant obligatoirement le trematode au cours de son cycle biologique.

Depuis 1966 notre équipe a étudié l'activité d'un composé, le trifenmorph (2), sur les mollusques amphibiens, *Limnaea truncatula*. Ce corps a été largement expérimenté en Afrique et en Amérique du Sud pour lutter contre les trematodes responsables de la transmission de la bilharziose à *Schistosoma mansoni*.

(1) M. PITOIS, Docteur-vétérinaire, Agrishell, Lyon.

(2) Frescon, M.D. Shell.

Les études faites au laboratoire avaient au préalable révélé son inocuité pour la faune et la flore aux doses d'emploi recommandées. Son application, sur des prairies humides pâturées par des vaches laitières, avait permis de mesurer les résidus de son principal métabolite dans le lait et la viande. Un délai d'attente de cinq jours est suffisant entre le traitement molluscicide avec le trifenmorph et l'introduction des animaux pour éviter l'apparition de résidus indésirables dans la viande et le lait.

L'activité du trifenmorph, à 400-500 g de matière active à l'hectare, permet d'obtenir sur la surface de la pâture favorable à la pullulation des limnées, une concentration supérieure à 0,02 ppm. A cette concentration le trifenmorph exerce une activité létale spécifique sur les Basomatophores.

Dans le cadre de nos essais nous avons appliqué une méthode biologique récente décrite en 1966 en Irlande par Ross et en 1967 par Crossland.

Notre but était de mesurer l'effet salubre éventuel que pouvait exercer une application de molluscicide au printemps sur des prairies infestées de limnées.

Nous avons choisi deux prairies, l'une près de Broglie (27) en Normandie, l'autre près de Rochefort (17) pour la conduite de notre expérimentation.

A la suite de l'application du trifenmorph, à raison de 400 g de matière active par hectare sur les parcelles traitées en mai, nous avons exposé des moutons "traceurs" pendant une période de pâturage définie. Ces moutons dits "traceurs" ont pour rôle d'intégrer les métacercaires de *Fasciola hepatica* présents sur la parcelle. Les moutons "traceurs" furent ensuite hébergés pendant 10 à 12 semaines en bergerie pour permettre aux derniers métacercaires intégrés de devenir immatures et adultes. Au moment de la sacrifice des moutons "traceurs" il a alors suffi de compter le nombre de douves présentes dans chaque foie, chez les animaux des parcelles traitées ou des parcelles témoins.

Afin de reproduire les conditions naturelles de transmission, des bovins ou des ovins cliniquement atteints de fasciolose furent maintenus sur les sites de l'essai d'avril à juillet.

Les résultats enregistrés au cours des années allant de 1968 à 1972 nous ont permis de constater :

a) que la destruction des limnées permettait de réduire significativement le nombre de douves infestant les moutons ;

b) que l'infestation de 1968-1969 enregistrée chez les témoins a commencé plus tôt (automne 1968) en Charente qu'en Normandie ;

c) que l'infestation du témoin est d'autant plus élevée que le séjour en pâture est plus long, mais en particulier que des moutons exposés pendant six mois hébergeaient à l'autopsie deux fois plus de douves que le nombre cumulé des parasites hébergés par trois groupes successifs de moutons exposés sur la même pâture.

Les détails de ces résultats ont fait l'objet de publications récentes dans la revue de Médecine Vétérinaire et dans le Recueil de l'Ecole Vétérinaire d'Alfort. Il serait trop long de les détailler ici.

Pour conclure ce court exposé, nous souhaitons remercier le laboratoire d'écologie de l'I.N.R.A. à Rouen qui a enregistré la dynamique des populations de limnées et l'action du trifenmorph sur la faune de la prairie, et également le laboratoire de parasitologie du S.E.I. à Rouen qui a collaboré avec notre équipe.

\* \* \* \*

## BIBLIOGRAPHIE

- BEN DAWES et HUGUES (D. L.), 1964. - The invasive stages of *Fasciola hepatica* in Mammalian Hosts. Adv. in Paras. 1964, Academic Press, pp. 97-165.
- BEYNON (K. L.), EDWARDS (M. J.) et WRIGHT (A. N.), 1970. - Determination of the molluscicide trifenmorph and its Breakdown product triphenyl-carbinol I. methods. Prestic. Sci., vol. 1, 200.
- BEYNON (K. L.) et WRIGHT (A. N.), 1967. - Breakdown of the Molluscicide N-tritylmorpholine in Soil and Rice. Bull. Org. mond. Santé, 37, 65.
- BORAY (J. C.), 1969. - Experimental Fascioliasis in Australia. Adv. in Paras. 1969, Academic Press, pp. 96-205.
- BROWN (U. K.), STEVENSON (D. E.) et WALKER (A. I. T.), 1967. - Toxicological Studies with the molluscicide N-Tritylmorpholine. Bull. Org. mond. Santé, 37, 73.
- CAILLIER (R. L.), PITOIS (M.) et RICOU (G.) and Coll. 1970. - Two years of experiences in France in the control of Fascioliasis. Proceedings of the 1970 Symposium (Heathrow, London Airport).
- CROSSLAND (N. O.), BENNETT (M. S.) et HOPE CAWDERY (M. J.), 1969. - Preliminary observations on the control of *Fasciola hepatica* with the Molluscicide N-Tritylmorpholine. Vet. Rec., 84, 182.
- EUZEBY (J.), 1971. - Ecologie et biologie de *Limnaea truncatula* en Europe. Cah. Med. Vet. 1971, 40, pp. 283-289.
- GIELFRICH (G.), 1970. - Communication au Colloque sur la fasciolose. Fac. de Med. de Rennes, mai 1970.
- KENDALL (S. B.), 1965. - Relationships between the species of *Fasciola* and their molluscan hosts. Adv. in Paras. 3, pp. 59-98.
- KOOPMAN (J. J.) and OVER (H. J.). - Preventieve aspecten van de leverbotbestrijding. (Landbouwn kundig Tijdschrift).
- OLLERENSHAW (C. B.) and ROWLANDS (W. T.), 1959. - A method for forecasting the incidence of Fascioliasis in Anglesey. Vet. Rec. 71, 591.
- OVER (H. J.), 1962. - A method of determining the liver fluke environment by means of the vegetation type. Bull. Off. Int. Epiz. 58, pp. 297-304.
- PANTELOURIS (E. M.), 1965. - The common liver fluke. Pergamon Press Ltd 1965.
- PECHEUR (M.). - Université catholique de Louvain. Fac. des Sciences Agronomiques, Distomatose et prophylaxie.
- QUINCHON (C.) et MORNET (P.), 1966. - L'épidémiologie en Médecine Vétérinaire et Economie Animale. Rec. Med. Vet. 142, 949.
- RICOU (G.) and CAILLIER (R. L.), 1967. - Observations on the infestation of fascioliasis biotopes with *Limnaea* snails. Second International Liverfluke Colloquium, Wageningen, N.L., 1967.
- ROSS (J. G.), 1967. - Vet. Rec. 80, 214.
- URQUARDT (G. M.), DOYLE (J.), and JENNINGS (F. N.), 1970. - Studies on ovine Fascioliasis III, Vet. Rec. 86, 338.



## LA LUTTE ANTI-LIMACES : HISTORIQUE ET EVOLUTION

par J.C. WEISS (1)

### RESUME

L'auteur passe en revue l'ensemble des produits utilisés comme molluscicides. Les critères d'action sur les limaces sont également analysés. Une meilleure liaison entre la recherche et l'industrie apparaît souhaitable pour la mise au point de produits de qualité.

### SUMMARY

The publication concerns a review of the whole chemicals used as molluscicides. Their way of acting on slugs are also analyzed. Straiter correlation between research and industry is wished to elaborate products of quality.

\* \* \* \* \*

Depuis très longtemps l'homme a été amené à considérer la limace et l'escargot comme déprédateurs de ses cultures. Déjà Pline (23 - 79 après J.C.) rapportait des dégâts causés par les limaces sur salades et choux. Toutefois jusqu'au Moyen-âge on ne connaissait aucune méthode de lutte à l'exception tout au plus de la destruction physique des limaces. Konrad von Megenberg indique en 1349 la possibilité de détruire les limaces à l'aide de sel. Toutefois, il faudra attendre Schirach (1772) pour trouver la description de méthodes qui pourraient être considérées comme l'ébauche d'un système de lutte. Ainsi Schirach indique en plus des méthodes déjà connues, ainsi que l'épandage de suie, de cendre, d'engrais, la possibilité d'utiliser de la chaux ainsi que des appâts empoisonnés, considérant comme poison approprié l'arsenic. Il est évident que toutes les méthodes précitées étaient insuffisantes et qu'à côté de l'épandage de chaux qui dans le cadre des pratiques agricoles a conservé sa justification, c'était l'idée des appâts empoisonnés qui était à retenir.

Néanmoins il a fallu attendre jusqu'aux années trente pour avoir une substance active satisfaisante qui puisse être incorporée aux appâts anti-limaces.

C'est ainsi qu'on découvrit en 1936 en Europe que des restes de tablettes NETA tuaient les limaces. Il faut toutefois remarquer que ce fait était connu en Afrique du Sud déjà en 1934, ainsi que le rapporte Gimingham (1937). En 1937 différents brevets d'invention étaient enregistrés concernant des produits consistant en un mélange de métaldéhyde et de substances d'appâts.

Toutefois, le chemin qui a conduit aux formulations actuelles a été long et ardu et a demandé beaucoup de perspicacité et d'endurance de la part des formulateurs.

(1) Société LONZA - Münchensteinerstrasse 38 - BALE.

Regardons toutefois tout d'abord d'un peu plus près cette substance qui a d'un jour à l'autre rendu possible une lutte anti-limaces systématique.

Le métaldéhyde est un polymère cyclique de l'acétaldéhyde et se présente sous forme de cristaux blancs. Il sublime à  $12 - 115^{\circ}\text{C}$ . A des températures élevées le métaldéhyde a tendance à dépolymériser et à former de l'acétaldéhyde qui est fugace. Thomas a été en 1947 le premier à résumer le mode d'action du métaldéhyde sur les limaces :

1) Paralysie des ganglions nerveux et de ce fait de la respiration et de l'activité cardiaque. Du fait de la destruction progressive du système nerveux après ingestion de métaldéhyde l'animal se trouve dans un état de contraction avec un minimum de mouvement apparent.

2) Transparence de la paroi intestinale par destruction de la muqueuse.

Les deux effets précités conduisent à la mort. Si la dose de poison intégrée est sub létale on observe les effets suivants :

1) Effet anesthésiant. L'animal est encore capable de mouvements, qui toutefois sont effectués uniquement après une forte stimulation.

2) Effet d'irritation qui se traduit par une intense salivation.

Une dose sub létale peut également conduire à la mort de l'animal si le concours des conditions climatiques défavorables à l'animal est assuré. Ainsi l'anesthésie et la perte de mucus provoquent par temps chaud et sec la dessiccation de la limace, surtout si l'animal est immobilisé dans un environnement défavorable.

Notons que la limace peut perdre jusqu'à 50 % de son poids en eau par l'effet du métaldéhyde et si l'action du soleil ou d'une journée chaude et sèche s'associe à l'action du métaldéhyde l'animal meurt même s'il a ingéré une dose sub létale.

Ceci explique que la dose létale de métaldéhyde dépende beaucoup des conditions climatiques.

En 1946 Stringer démontrait que des appâts contenant 1 % de métaldéhyde étaient insuffisants pour avoir une action létale sur les limaces dans des conditions d'humidité de 95 - 100 %, tandis que la mortalité était de 100 % à 70 - 75 % d'humidité. Pour atteindre une mortalité de 100 % à 95 - 100 % d'humidité il fallait recourir à des granulés contenant 10 % de métaldéhyde. Nous reviendrons à ces questions de dosage des granulés. Notons pour l'instant simplement que des considérations d'efficacité et d'économie ont conduit les formulateurs à utiliser aujourd'hui généralement un dosage de 5 - 7 % de métaldéhyde.

Pour compléter le tableau de l'action du métaldéhyde, indiquons qu'il s'agit d'un produit qui agit autant par effet de contact que par ingestion. Certaines espèces sont plus sensibles au contact qu'à l'ingestion, tandis que pour d'autres c'est le contraire. (Ainsi Thomas rapporte que *Helix aspersa* supporte fort bien le contact, tandis que la mort survient rapidement après ingestion d'une quantité comparable).

Avant d'aller plus dans le détail en ce qui concerne les méthodes de lutte modernes, touchons rapidement les autres produits qui ont été essayés pour la lutte anti-limaces. Parmi les produits qui sont encore parfois utilisés en agriculture mentionnons tout d'abord la cyanamide calcique. Ce produit dont l'utilisation a été étudiée en détail par le Prof. Van den Bruel, conserve des possibilités d'application, ayant à des doses de plus de 300 kg/ha un effet hélicide et une rémanence de plusieurs jours. Les meilleurs effets sont obtenus sur des champs exempts de refuge sûr pour les limaces, tandis que le produit ne convient pas si les limaces peuvent se réfugier sous un abri. Dans ce cas, du fait de l'effet répulsif du produit, les limaces ne sortent pas de leur abri et sont en mesure de se soustraire à l'effet hélicide de la cyanamide calcique.

La cyanamide calcique présente une supériorité sur les méthodes anciennes de lutte tel que l'épandage de chaux et de sulfate de cuivre, produits qui ne disposent pas d'une longueur d'action suffisante.

Si au cours des années 50 les recherches pour trouver des alternatives à la lutte à l'aide du métaldéhyde ont porté surtout sur l'essai de produits du type irritant et deshydratant tels que la cyanamide calcique, la chaux ainsi que des composés nitrochlorés aromatiques tels que le parachloronitrobenzène, les années 60 ont apporté une nouvelle gamme de produits, présentant une action hélicide par empoisonnement spécifique. Il s'agit en première ligne des carbamates. Il est connu que sur les insectes les carbamates ont pour effet un blocage de la cholinestérase (Casida, 1960). Il est toutefois inconnu si ce mécanisme a lieu également dans le corps des mollusques (Godan, 1965).

Des travaux d'évaluation détaillés de différents molluscicides ont été entrepris par Getzin et Cole de 1961 à 1963. Une cinquantaine de produits furent testés au cours de ces expériences. Sous forme d'appât aucun des produits testés ne s'est montré aussi efficace que le métaldéhyde.

Des expériences d'injection directe de différents carbamates dans le canal alimentaire d'*Agriolimax reticulatus* réalisées par Hunter et Johnston (1969), démontrèrent pour cette espèce une sensibilité assez élevée à différents carbamates, notamment aux produits Shell W1 21959, Lannate et Methiocarb. De même des essais réalisés avec plus de 70 produits appliqués sous forme de tranches de carottes imbibées démontrèrent une action molluscicide de bon nombre des substances testées (Judge, 1970). Toutefois, ainsi que l'a montré Mme Godan pour les carbamates Carbaryl, Isolan, Zectran et Minacide (Godan, 1965) l'action des carbamates dépend beaucoup des espèces de Gastéropodes à combattre.

Nous ne prétendons pas tirer ici un bilan des possibilités de l'emploi des carbamates dans la lutte contre les Gastéropodes terrestres. Disons seulement que jusqu'à présent des considérations écologiques et toxicologiques ont limité ou prohibé l'emploi de ces produits dans le cadre de la lutte anti-limaces. Le fait que les carbamates ne possèdent une spécificité anti-limaces que très relative, associée à une action secondaire sur le reste de la biologie du sol, ainsi que leur toxicité élevée pour les mammifères, incident à beaucoup de précaution dans leur emploi.

Rappelons que pour le carbamate le plus connu pour ses effets hélicides, le Methiocarb ou Mesuroil, la DL 50 sur le rat est de 100 - 130 mg/kg, pour certains oiseaux même de 5 - 10 mg/kg (Bayer Pflanzenschutznachrichten 1969/2), tandis que celle du métaldéhyde se situe autour de 700 - 1000 mg/kg.

Aujourd'hui, où des considérations écologiques et toxicologiques prennent à juste titre une importance croissante on est porté à se tourner de préférence vers l'utilisation de produits plus spécifiques et moins toxiques. Pour cette raison le métaldéhyde apparaît toujours comme la matière active de base à retenir pour la lutte anti-limaces.

Considérons maintenant les méthodes de lutte qui s'offrent à nous : on peut distinguer la méthode de lutte par appâts qui est de loin la plus importante, puis la lutte à l'aide de suspensions, l'épandage de poudre de métaldéhyde mélangée à une poudre inerte, puis le badigeonnage de troncs d'arbres fruitiers à l'aide d'une glu contenant du métaldéhyde, méthode employée dans certains pays du bassin méditerranéen pour la protection des orangers.

Des alternatives à la lutte avec les granulés il n'y a toutefois que la lutte à l'aide de suspension de métaldéhyde qui est d'une certaine importance. La concentration à conseiller pour les suspensions est de 0, 12 - 0, 6 % de matière active, selon les cultures. Généralement l'application de 4 - 6 kg/ha de matière active est recommandée.

Comme l'ont montré Van den Bruel et Moens (1957) l'efficacité de la pulvérisation dépend de

- a) la température,
- b) les précipitations,
- c) la présence ou l'absence de couverture végétale,
- d) la quantité de matière active.

La température idéale se situe entre des maxima de 20 - 25° C et des minima de 10 - 15° C. Des fortes précipitations entravent l'action du produit, tandis que de faibles pluies ont peu d'influence. Par temps sec et ensoleillé l'effet rémanent est plus prolongé sur sol couvert qu'en terre nue. Les auteurs concluent que la durée rémanente 100 % s'observe selon les conditions pendant 1 - 4 jours.

Sur l'emploi des granulés nombre d'expériences ont déjà été réalisées.

L'appareil important que la limace tout d'abord entre en contact avec le granulé, c'est-à-dire soit attirée par le granulé qui, de ce fait, ne doit pas être trop éloigné, puis soit en mesure d'absorber une quantité suffisante de matière active avant que l'action anesthésiante du métaldéhyde ne se manifeste. Il en ressort que les granulés ne doivent pas être trop espacés. A ce sujet citons les récentes expériences de Hunter et Symonds (1969) et de Webley (1970). Il ressort de ces expériences qu'en moyenne un espacement des granulés de 10-20 cm correspond à une solution optimale si l'on tient compte de l'aspect efficacité et économie, quoique le maximum d'efficacité soit atteint avec un espacement d'environ 7,5 cm. Le dosage optimal en métaldéhyde du point de vue économique se situe autour de 6-7 %, quoique le maximum d'efficacité soit sans doute atteint avec un dosage supérieur. Rappelons que le dosage minimum de métaldéhyde est prescrit dans beaucoup de pays. La Belgique l'a récemment fixé à 6 %, tandis que dans la plupart des autres pays des dosages inférieurs sont encore en usage. Le plus grand retard est enregistré aux Etats-Unis où certaines formulations ne contiennent pas plus de 2-3 % de métaldéhyde. Ceci est dû au fait qu'encre récemment il y avait d'usage d'incorporer aux granulés, à côté du métaldéhyde, un certain pourcentage d'arséniate, pratique qui aujourd'hui est interdite.

Pour la préparation des granulés les questions qui prêtent le plus à discussion et où des recherches supplémentaires seraient appropriées concernent les matières à intégrer aux granulés comme appâts ainsi que les additifs destinés à préserver l'attractivité des granulés : fongicides et bactéricides. Nous entrons ici toutefois dans les secrets de fabrication. La difficulté réside dans le fait que les multiples espèces de limaces sont attirées par des produits très différents. Ainsi Mme Godan (1961) indique que les limaces consommatrices de tubercules comme *Limax maximus* et *L. flavus* sont attirées par les granulés à base de son, tandis que les limaces dévastatrices de feuilles vertes tels que beaucoup d'arionides et escargots ne consomment des granulés à base de son que s'ils les rencontrent par hasard sur leur chemin. Il est d'autre part connu que la lutte contre les mollusques attaquant les fraisiers est relativement difficile, du fait de l'attraction supérieure du fruit.

Dans une "Contribution à l'étude des mollusques nuisibles en Normandie" (1961) Mme Ricou analyse ces différences. Il est intéressant que la limace grise soit attirée par des végétaux en bon état, tandis que la limace noire préfère les produits en décomposition.

Il y aurait certainement lieu de tenir plus compte de ces différences dans la préparation des granulés et il pourrait apparaître avantageux de développer des substances d'appâts spécifiques pour la protection des cultures importantes (je pense ici par exemple à l'incorporation d'extraits du produit de culture qu'il s'agit de défendre).

La protection des granulés contre la moisissure est également de première importance, sachant que le son, dès qu'il moisit n'est plus touché (Ricou, 1961).

D'autre part une méthode de lutte sûre contre les limaces opérant au niveau du sous-sol n'est pas encore au point. On pourrait penser à un enrobage de métaldéhyde pour les graines de céréales qui sont à protéger, ainsi qu'à une formulation persistante, sous forme de granule ou autre, résistant à la décomposition au niveau du sous-sol.

Différents brevets ont été déposés à ce sujet, sans que nous ne sachions toutefois que ces nouveautés aient trouvé des applications en pratique.

Ceci nous paraît être des problèmes qui nécessitent des recherches supplémentaires. Un handicap pour le développement de la lutte anti-limaces réside dans le fait que les formulations hélicides ne représentent qu'un produit de faible intérêt économique pour les maisons productrices de produits anti-parasitaires, ce qui ne permet pas d'attendre des résultats spectaculaires dans l'amélioration des produits existants. Comme dans le passé nous devons, pour les années à venir, nous attendre à ce que les recherches soient faites par des chercheurs indépendants ou au service de stations de recherches, sans que les formulateurs de granulés en majorité ne tiennent suffisamment compte des résultats des dernières recherches. Nous savons que ceci n'est pas le cas pour tous les formulateurs, toutefois c'est la situation qui prédomine dans la majorité des pays, où les granulés anti-limaces sont trop souvent vendus au kilo et où il s'agit pour le formulateur de produire le meilleur marché possible, sans que des considérations de qualité entrent en ligne de compte.



Il apparaîtrait souhaitable que les formulations hélicides soumises à l'homologation soient examinées par des spécialistes malacologues, ce qui malheureusement n'est pas encore le cas dans tous les pays. Ceci permettrait de formuler des critères de qualité qui inciteraient les formulateurs à accorder plus d'intérêt à la qualité de leurs produits.

\* \* \* \*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BARNES (H.F.) and WEIL (J.W.). - Baiting Slugs using Metaldehyde mixed with various substances, 1942.
- BRUEL VAN DEN (W. E.) et MOENS (R.). - Une méthode de lutte efficace utilisable en plein champ contre les limaces, 1956.
- BRUEL VAN DEN (W. E.) et MOENS (R.). - Nouvelles observations sur les propriétés des hélicides, 1958.
- BRUEL VAN DEN (W.E.) et MOENS (R.). - Les propriétés des hélicides et la protection des cultures, 1960.
- GETZIN (L.W.) and COLE (S.G.). - Evaluation of potential Molluscicides for Slug Control, 1964.
- GODAN (Dora). - Untersuchungen über die Wirksamkeit von Metaldehydködern auf Nacktschnecken unter Berücksichtigung ihrer Verhaltensreaktionen, 1961.
- GODAN (Dora). - Untersuchungen über die molluskizide Wirkung der Carbamate, 1. Teil : ihre Toxizität auf Nacktschnecken, 1965.
- GODAN (Dora). - Untersuchung über die molluskizide Wirkung der Carbamate, 2. Teil : Abhängigkeit von Art, Grösse und Ernährung der Schnecke (1966).
- HUNTER (P.J.) and SYMONDS (B.V.). - The distribution of bait pellets for slug control, 1969.
- HUNTER (P.J.) and JOHNSTON (D. L.). - Screening Carbamates for Toxicity against Slugs, 1969.
- JUDGE (F.D.). - Preliminary Screening of Candidate Molluscicides, 1969.
- GIMINGHAM (C.T.) and NEWTON (H. C. F.). - A Poison Bait for Slugs, 1937.
- RICOU (G.). - Contribution à l'étude des Mollusques nuisibles en Normandie, 1961.
- STRINGER (A.). - A note on the action of Metaldehyde on Slugs, 1946.
- THOMAS (D.C.). - The use of Metaldehyde against Slugs, 1948.
- WEBLEY (D.). - Observations on the effects of distribution and numbers of slug pellets on the catch of slugs, 1970.



## METHODOLOGIE EXPERIMENTALE DU CONTROLE D'EFFICACITE DES MOLLUSCICIDES A HOMOLOGUER

par G. RICOU (1) avec la collaboration technique de Raymonde FERRET

### RESUME

L'homologation des produits molluscicides anti-limaces exige une expérimentation à tous les niveaux. Les essais biologiques en laboratoire optimisent l'efficacité des formules et ne constituent qu'un premier stade.

Les essais d'efficacité doivent être réalisés sur le terrain. Les systèmes utilisés en Europe sont décrits. Celui qui nous préconisons est rapide et permet d'obtenir un pourcentage absolu de mortalité. L'extension des essais en plein champ a suscité des difficultés liées à celles de l'estimation des densités de populations. Elle a permis de fournir un protocole à la Commission des Essais biologiques, pour une normalisation de l'expérimentation en France.

De nombreux tests d'homologation ont été réalisés depuis 1960 et les observations faites à cette occasion permettent de déterminer les caractéristiques des meilleurs appâts et ce que l'on peut attendre des matières actives, en général.

### SUMMARY

To homologate molluscicides against slugs we have to do experiments at different levels. Biological trials in laboratory are optimist concerning the efficiency of formulations and only represent a first stadium of working.

Efficiency trials must be done in the open. Systems used in Europe are described. Ours is rapid and gives an absolute percentage of mortality. To extend the experiment to the open field raises some difficulties bound to the estimation of slugs densities. Thus, a method could be furnished to the Biological trials Commission, to standardize the experiment in France.

Numerous tests of homologation have been done since 1960. The observations relative to them are useful to define the characteristics of the best baits and what can be expected from active substances.

\* \* \* \*

Les règles de l'homologation des produits molluscicides entrent dans le cadre de la réglementation générale des "produits antiparasitaires à usage agricole", instituée par une loi du 2 novembre 1943. Il est bon d'en rappeler les termes et de voir quelles sont les particularités relatives à la catégorie des produits molluscicides.

(1) Laboratoire de Zoologie I.N.R.A. - 16 rue Dufay - ROUEN.

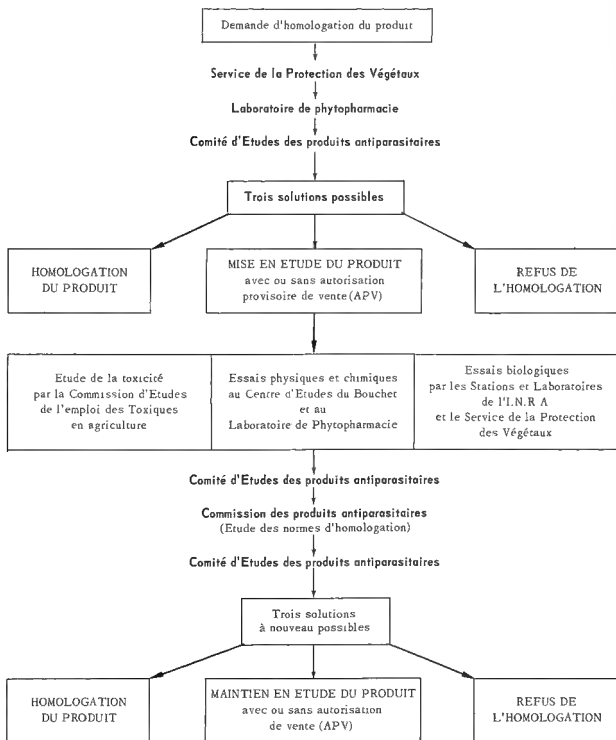
# I - HOMOLOGATION (1) ET ESSAIS BIOLOGIQUES (Tableau 1)

## 1) HOMOLOGATION

Pour être homologué, un produit doit être :

- suffisamment efficace
- sans danger pour l'homme ou les animaux domestiques
- sans nocivité pour les végétaux traités

Tableau 1 - Schéma du mécanisme de l'homologation des produits antiparasitaires



(1) Documentation du Laboratoire de Phytopharmacie de l'I.N.R.A. pour laquelle nous remercions M. VENTURA.

Il subit donc, après la phase initiale de la recherche chimique et du screening en laboratoire, celle du "banc d'essai" et celle du "laisser-passer". Autrement dit, dès qu'une demande d'homologation est adressée au Service de la Protection des Végétaux (Ministère de l'Agriculture) elle est intruée par le Directeur du Laboratoire de Phytopharmacie de l'I. N. R. A. qui présente, à son sujet, un rapport au Comité d'Etudes des produits antiparasitaires. Si la base du produit est une matière active peu connue ou nouvelle, et si elle est retenue des essais physiques, chimiques et biologiques sont exigés et doivent être présentés sous forme d'un dossier à retourner au Comité.

La constitution du dossier est plus ou moins aisée. Les caractéristiques physiques et chimiques sont faciles à fournir. S'il s'agit d'une substance active nouvelle, elle doit, de plus, être soumise à un examen de la Commission d'Etudes de l'emploi des Toxiques en agriculture. Les essais biologiques sont plus complexes à plusieurs niveaux : expérimentation obligatoire en laboratoire ou sur de petites unités de terrain, expérimentation ultérieure à l'échelon de l'exploitation agricole suivant un protocole établi par la Commission des Essais Biologiques.

Après consultation du dossier, le Comité d'Etudes propose l'acceptation ou le rejet, ou encore exige un supplément d'information et le Ministre de l'Agriculture notifie sa décision au demandeur, sous forme d'une autorisation provisoire de vente ou d'une homologation définitive, toutes deux révisables.

Les Services techniques du Ministère de l'Agriculture sont concernés à tous les niveaux et c'est à celui des essais biologiques que nous intervenons.

Un projet tendant à modifier la loi du 2 novembre 1943 a été déposé à l'Assemblée Nationale, en février 1972, par le Ministre de l'Agriculture. Il vise à étendre l'obligation de l'homologation à de nouvelles catégories de produits antiparasitaires. Il concerne donc, entre autres, une nouvelle catégorie de molluscicides, non plus seulement ceux destinés à la protection des végétaux mais ceux qui sont appliqués contre les Molluscicides vecteurs de maladies humaines ou animales. Ainsi, les produits utilisés sur les prairies contre les Limnées devraient faire l'objet d'une homologation. Déjà, le trifenmorph a été expérimenté en ce sens, en prairie.

Quant aux molluscicides déjà soumis à homologation, rien n'est venu modifier les rubriques concernant l'emploi du méthaldéhyde sous forme d'appâts au son (5 % méta en fin de fabrication, 85 % de son en principe) à défaut d'expérimentation convaincante sur de nouveaux appâts. Une nouvelle matière active, le mercaptodiméthure, a, par contre, été mise en circulation, alors que des demandes relatives à d'autres carbamates étaient également présentées au Ministère de l'Agriculture, sans obtenir l'autorisation de vente.

## 2) ESSAIS BIOLOGIQUES

Le Laboratoire de Zoologie de l'I. N. R. A. à Rouen, intervient au niveau des essais biologiques qu'il réalise à la demande, les résultats de l'expérimentation figurant au dossier du produit. Les méthodes de contrôle de l'efficacité peuvent se situer à divers niveaux, en tout début d'expérimentation, par exemple, le contrôle permet de conseiller l'industriel afin de le réorienter vers une nouvelle fabrication ou d'améliorer celle-ci, si les résultats se révèlent insuffisants.

Les essais biologiques revêtent différentes formes, selon les besoins et les réalisateurs. Jusqu'à maintenant ils ont souvent concerné des produits sous forme de granules destinés à traiter les limaces, mais très variables par les qualités physiques et la composition de l'appât (il contient rarement 85 % de son mais plutôt un mélange). Le pouvoir molluscicide des granules apparaît donc très divers, selon leur formule et leur mode d'utilisation. Aussi, diverses techniques d'essais sont elles retenues, qui tiennent compte de l'action des facteurs externes en général et du comportement des Mollusques. Nous ne traiterons ici que des essais de produits anti-limaces, spécialement destinés à lutter contre l'espèce *Agriolimax reticulatus*.

#### A) ESSAIS EN LABORATOIRE

Au dernier Symposium International de Phytopharmacie et de Phytatrie (1972) MOENS a rappelé qu'il n'existe pas encore de méthode qui permette, en laboratoire, un contrôle rapide de l'efficacité des nouvelles préparations hélicides par rapport aux anciennes. La plupart des laboratoires procèdent en testant des limaces (*Agriolimax reticulatus*) mises en boîtes de Pétri ou autres récipients, sur un papier filtre humidifié, en présence de granulés. Le contrôle de l'efficacité est exprimé en pourcentage de mortalité au bout de 24 h.

Cette méthode s'avère très fautive si l'on veut tester l'action réelle d'une formulation sur les limaces. En réalité, elle met en évidence la réaction de celles-ci aux facteurs de l'essai, température en particulier, et nous l'avons utilisée en ce sens (RICOU, 1964). Les réactions sur le terrain soumises à tous les facteurs physiques, climatiques, etc., sont tout autres.

De plus, la méthode est optimiste car les limaces prospectent l'espace très limité qui leur est offert et rencontrent obligatoirement les granulés. Toutefois, en ce sens, on peut l'utiliser valablement pour obtenir deux sortes d'informations.

aa) Pour un essai préliminaire sur une matière active nouvelle en vue de tester son pouvoir molluscicide. Si le pourcentage de mortalité est élevé, la matière est molluscicide mais sa formulation devra être testée sur le terrain pour contrôler son efficacité dans les conditions naturelles. Si la mortalité est moyenne, elle sera trop faible en conditions naturelles, il est inutile de poursuivre les essais.

Nous avons ainsi testé un certain nombre de matières actives qui paraissaient susceptibles d'être intéressantes mais qui se sont révélées très décevantes : la dichloralurée, l'éthion sur *Arion hortensis* en pulvérisation sur un fond de terre et sur du trèfle (mortalité 4 % en 7 jours, consommation de 100 *Arion* : 2,7 cm<sup>2</sup> trèfle/jour), le sevin en pulvérisation sur du son et sur du trèfle (mortalité 14 % en 7 jours, consommation de 100 *Agriolimax* : 2,7 cm<sup>2</sup> trèfle/jour), ou en granulés, le zectran pulvérisé sur du son et qui, malgré de bons résultats en laboratoire (mortalité 100 % en 2 jours, consommation : 0) s'est révélé décevant sur le terrain, sous forme granulée, à toutes les doses utilisées. Ce dernier semble requérir des formes particulières pour conserver une efficacité valable lors de l'emploi en conditions naturelles. L'action des carbamates a été étudiée par ailleurs (GODAN, 1965, 1966, 1967) et n'est citée ici qu'à titre d'exemple, le sevin et le zectran n'étant, de plus, pas utilisés dans la pratique, en Europe.

ab) Pour une comparaison entre deux formulations voisines, afin de les tester l'une par rapport à l'autre, en dehors de toute considération d'application sur le terrain. Le système des boîtes de Pétri garnies de papier filtre doit toujours comporter l'adjonction d'une tige feuillée de trèfle par boîte et l'emploi d'une seule limace (*A. reticulatus*) - deux au plus -. Ce type d'essai est pratique pour comparer la différence d'attractivité de granulés identiques en dehors de leur matière active. Il est intéressant de maintenir 19-20° C dans le local pour assurer une activité optimale aux limaces. Au-dessus de cette température, celle-ci faiblit (arrêt à 23° C).

Une nourriture naturelle (Trèfle blanc, par exemple) doit toujours être ajoutée lorsqu'il s'agit de tester la valeur attractive d'un appât. Il est, d'ailleurs, jusqu'à maintenant difficile de se prononcer sur la valeur du concept d'attractivité. MALLET et BOUGARAN (1968) ont expérimenté un olfactomètre à une chambre centrale et 2, puis 6 tubes à l'extrémité desquels sont disposés les appâts. Contrairement aux apparences selon lesquelles les limaces sont nettement groupées auprès de la laitue, par exemple, la révélation chimique des traces de mucus montre d'intenses déplacements dans tous les sens. Il apparaît alors très difficile de tester par comparaison l'attractivité de granulés en fonction des appâts que différencient leurs formules. Le groupement des limaces auprès de certaines matières exprime-t-il leur attractivité ou leur appétence ?

Dans ce contexte un essai avait été réalisé, au départ, dans une case de terre de 25 m<sup>2</sup> de surface. Au centre de la case était disposé un abri couvert de fibrociment, planté de trèfle, avec une population apportée de 50 *A. reticulatus*, 50 *Arion hortensis*, 50 *Helix aspersa*. Tout autour étaient disposés, à 4 m de l'abri des tas de nourritures diverses, sous des pots à fleurs posés de façon à maintenir une demi-obscurité. Un deuxième essai avait été répété sur une surface de 1 m<sup>2</sup> en enlevant les nourritures végétales. Les résultats sont consignés au tableau 2.

Tableau II - «Attraction» comparée des appâts sur 3 espèces de Mollusques

Nombre total de Mollusques	Essai 1		Essai 2				
	Contrôle 1 jour	4 j.	Contrôle 1 jour	2 j.	6 j.	7 j.	10 j.
Oeillet d'Inde	13	22					
Son + saccharose	8	4	35	33	40	21	23
Son	2	5	7	14	26	18	23
Son + Tourteau de lin + Torula	5	7	12	6	7	8	18
Tourteau de lin		10	18	18	15	13	9
Torula	1	2	35	30	27	28	15
Sureau		9					
Penicillium	1	1	6	8	7	12	12

Apparemment, l'Oeillet d'Inde, le son supplémenté à 10 % de saccharose et les *Torula* ont l'action la plus nette et la plus rapide sur les 3 espèces (le son saccharosé est toutefois plus fréquenté par *Agriolimax reticulatus* et les levures *Torula* par *Arion hortensis*). Cependant la consommation totale de ces appâts, puis celle du son en second lieu, prouve une intense circulation des Mollusques. Cet essai démontre une appétence particulière pour certaines substances et au contraire, une absence totale de consommation et peut-être une répulsion pour les moisissures du type *Penicillium*. Il ne semble pas aisé de distinguer les concepts d'attractivité et d'appétence dans les conditions décrites.

A la suite des observations de MALLET (1968) concernant ce problème, nous avons réalisé des essais sur un certain nombre de fabrications, en boîtes de Pétri, en cristallisoirs et en cadres de 70 cm de côté, avec un fond de terre contenant chacun 50 limaces au centre, sous abri de trèfle. L'ensemble de ces essais réalisés en observation continue, montre une activité de prospection intense en fonction d'une température optimale. Elle n'est pas dirigée vers un appât plutôt qu'un autre, à la suite d'une prospection généralisée, les limaces se regroupent auprès des appâts préférés parce qu'appétents. Il semblerait donc, dans l'état actuel des travaux qu'il faille considérer le concept d'appétence comme déterminant dans la fabrication des appâts.

En résumé, les essais de laboratoire sont valables à condition de les appliquer sous réserve de bien définir leurs limites : optimisation de l'efficacité, comparaison de formulations voisines qui feront ensuite l'objet d'un essai sur le terrain.

Il faut les réaliser avec un minimum de 100 limaces (*Agriolimax reticulatus*, espèce la plus nuisible aux cultures). On utilise des boîtes de Pétri à fond garni de papier filtre humide, avec une tige de trèfle ou un morceau de feuille de chou au centre. Chaque boîte renferme 1 individu et 2 granulés de la même formulation. On peut ainsi comparer 2 produits (50 boîtes pour chacun) et on répète l'essai plusieurs fois (2 à 4 fois), chacun durant une semaine, en ajoutant autant de boîtes témoin qu'il est nécessaire.

Il est valable, en même temps, de réaliser une partie de l'essai groupé, en cristallisoirs et petits bacs plastiques d'élevage, contenant 5 limaces chacun, un abri végétal à une extrémité et un tas de granulés (5 à 10 selon la taille) à l'autre.

Ensuite, les essais d'efficacité à proprement parler doivent être repris sur le terrain pour pouvoir passer dans la pratique.

## B) ESSAIS SUR LE TERRAIN

Ils correspondent à l'extension des essais de laboratoire ; ils sont exécutés sur de petites surfaces, mais à l'extérieur.

Un système transitoire consiste dans l'emploi de terrariums. C'est celui qui a été adopté par MOENS (1972) ; les terrariums sont installés dans un local qui subit des fluctuations de température liées à celles de l'extérieur. Ce sont des pots à fleurs ( $\varnothing = 26$  cm) posés dans des cuvettes en plastique ( $34 \times 34 \times 12$  cm) contenant de l'eau qui remonte dans le milieu par capillarité. Ces pots contiennent une couche de sable (4 cm), surmontée de terre stérilisée (1 cm) semée de 50 grains de blé sur une surface de  $5 \times 3$  cm, voisinant avec des mottes de terre stérilisée posées sur le reste de la surface. Le schéma expérimental comporte 6 blocs de 3 terrariums : dans le premier on ajoute 100 mg de granulé à tester, dans le deuxième 100 mg d'un granulé référence et dans le troisième 100 mg du même mais sans matière active (témoin).

L'action mulluscicide, dans un tel test, est exprimée par la diminution d'activité des limaces, traduite en nombre de grains de blé attaqués.

De même, le système utilisé en Allemagne (protocole de la Station de Berlin-Dahlem) représente une transition entre essais de laboratoire et de terrain. Des cadres de 0,25 m<sup>2</sup>, contenant de la terre de jardin (2-3 cm) maintenue humide, couverts d'une gaze, sont installés au laboratoire et maintenus à 18-20° C. Pour un essai, 4 cadres (soit 1 m<sup>2</sup>) sont utilisés, avec 3 répétitions ; dans chacun sont placées 20 limaces (10 si elles sont de grande taille), de sorte que chaque essai utilise 320 limaces. La durée des observations est de 14 jours. En même temps, en serre froide, donc soumise à la température extérieure, une expérimentation est installée sur plusieurs tablettes de 2 m<sup>2</sup> couvertes de terre, plantées de salades (20 limaces/case). La persistance des produits est testée dans 4 cadres, en apportant des limaces au bout de 2, 5, 8, 11, 15, 20, 25 jours et en les laissant 48 heures en observation.

ba) Essais limités sur le terrain - Le système que nous utilisons au Laboratoire de Zoologie de Rouen est, au contraire, installé sur le terrain. Le principe en est l'observation de l'action des produits en fonction des conditions climatiques naturelles. L'apport d'un nombre connu de limaces (*A. reticulatus*) dans chaque cage permet un comptage exact des individus malades et morts. En effet, les essais qui consistent à poser les granulés directement sous des pièges, dans un terrain renfermant une population inconnue de limaces - l'efficacité étant estimée par le nombre des captures - ne tiennent pas compte d'un certain nombre d'éléments. Ces essais sont assez couramment pratiqués (MARTIN & FORREST, 1969, etc...) mais le nombre des captures peut varier en même temps : la densité de la population, le pouvoir de prospection des limaces, l'appétence de l'appât utilisé, etc... Or, les enregistrements d'activité par film (NEWELL, 1966) montrent des déplacements en surface, dans tous les sens, durant la nuit ; ceux par marquage radioactif sur le terrain (MOENS et al, 1965) prouvent que les déplacements ont lieu dans certaines directions liées à la distribution de taches de végétation et que leur intensité dépend des conditions climatiques. Le nombre des captures ne possède, dans ces conditions, qu'une valeur très relative.

C'est pourquoi nous utilisons pour les essais biologiques des batteries de cylindres en gaze de nylon tendue sur bâtis métallique. Leur diamètre est de 60 cm ainsi que leur hauteur. On les recouvre d'une gaze protectrice contre les oiseaux. Les cylindres sont installés sur une bande de terre nue et bien aplanie. Au centre de chacun est repiqué un bouquet de trèfle blanc, sur le côté un abri est constitué par une tuile maintenue inclinée par un caillou et 20 limaces sont déposées en dessous. Enfin, 3 tas du granulé à expérimenter sont placés en position diamétralement opposée. Chaque essai utilise 20 cylindres, 10 avec le produit à expérimenter, 10 avec un hélicide témoin (granulé à base de méta). Il dure une semaine mais il peut être prolongé si les conditions climatiques sont défavorables, il comprend au moins 3 contrôles. L'essai est mis en place le soir, les contrôles ont lieu le matin. Il est répété 3 fois, dans les cas les plus simples (utilisation de 1200 limaces).

A chaque contrôle sont dénombrées les limaces malades et mortes ; ces dernières sont ramassées. La plantation de trèfle est destinée à concurrencer les granulés ; les limaces non intéressées par les appâts restent sous l'abri ou dans le trèfle. Il suffit de soulever la tuile pour les compter ; les manquantes sont considérées comme vivantes, on peut d'ailleurs les retrouver enfouies.



Ce système, très pratique, permet de tester rapidement l'efficacité des produits présentés en granulés ou en formulations liquides car il suffit, dans ce cas, de pulvériser la plantation. Les produits sont soumis à des conditions climatiques diverses qui permettent de juger de leur action en milieu cultural. L'époque idéale pour cette expérimentation se situe de la mi-août à la mi-octobre.

bb) Essais parcellaires de plein champ - Le stade des essais parcellaires est souvent difficile à mettre en place. De nombreuses publications sur le sujet ont paru, sans qu'une théorie bien définie les justifie toujours. En effet, leur plus grande difficulté réside dans le fait qu'ils doivent permettre l'estimation de pourcentages d'action contre des populations dont la densité n'est pas connue.

Une estimation des populations n'est généralement pas réalisée avant l'essai ; on sait d'ailleurs combien elle est délicate puisqu'il s'agit d'échantillonner des individus dont la distribution est de type contagieux. SOUTH, dans une récapitulation des modes d'échantillonnage, donne un aperçu du problème (1964).

Une question qui se pose, avant de procéder aux prélèvements quantitatifs préliminaires à l'essai est la détermination du nombre et de la taille des échantillons. Nous avons constaté que la prise de 20 échantillons de 0,1 m<sup>2</sup> chacun, par hectare, soit 2 m<sup>2</sup> au total, donne de bien meilleurs résultats que celle d'un nombre multiple d'échantillons prélevés à la tarière hélicoïdale habituelle. Les densités recueillies dans une prairie sont, par exemple, 86 limaces au m<sup>2</sup> (14 *A. reticulatus*, 72 *Arion circumscriptum*) que les petits échantillons pris à la tarière donnent pour la même parcelle, 1 *Arion* au total ; pour les deux espèces l'analyse de la variance montre une distribution en taches des individus. De même, MOENS estime nécessaire le prélèvement de 20 à 25 carrés de 25 cm de côté à l'ha. HUNTER (1968) adopte également des échantillons assez grands (cube de 30 cm) car les petits provenant de la tarière (10 cm de diamètre, 30 cm de hauteur) lui fournissent, comme à nous, un nombre très faible de captures.

Il est rare qu'un tel échantillonnage soit pratiqué avant la mise en place d'essais parcellaires. Souvent des pièges sont installés quelques jours avant (1 à 2 jours dans le protocole allemand), pour avoir une idée des populations. HUNTER (1968) a pratiqué une analyse mathématique des diverses méthodes utilisables. Elle prouve que le piégeage par appâts (un piège est un morceau de gaze de térylène de 10 x 15 cm sur lequel on dispose 10 grains de blé ; il est couvert d'un sac double et on le fixe au sol par des fiches métalliques) est plus valable que le comptage des limaces, la nuit, pendant un temps donné (30 mn). Cette technique surestime la population de *A. reticulatus* ; celle du piégeage proprement dit (sacs posés sur une prairie par exemple) également. La conclusion de l'auteur est que le système mixte du piégeage par appâts et d'un petit nombre de sondages donne une bonne image, respectivement de la densité relative des espèces et de la composition : espèces, classes d'âge. Nous avons couramment pratiqué le piégeage et, pour récupérer l'espèce *A. reticulatus*, nous utilisons soit des planches, soit du carton ondulé car les limaces se logent dans les cannelures et on peut empiler ou rouler les feuilles sans les abîmer dans le transport. Nous mettons toujours du son sous ces abris.

Dans le protocole allemand, on traite des blocs de parcelles de 10 m<sup>2</sup> alignées le long d'une limite naturelle : haie, fossé, etc... La pulvérisation ou le poudrage de la végétation sont pratiqués en fin d'après-midi ; le produit doit atteindre le sol. Les granulés sont semés ou déposés en tas. Un témoin non traité est réservé dans le bloc. Installés de préférence en fin d'été, début d'automne, ces essais durent 5 jours. Les contrôles ont lieu au bout de 1, 3 et 5 jours, mais les essais peuvent être prolongés jusqu'à 7 et 14 jours. Le contrôle en terrain planté est facile le matin car on peut alors compter les limaces mortes et les vivantes qui ne sont pas encore enfouies et établir le pourcentage d'efficacité.

GETZIN et COLE (en communication) opèrent aux Etats-Unis, sur des parcelles de 20 x 30 pieds, en blocs randomisés. Les produits sont épanchés et aussitôt après, on repique 10 jeunes choux par parcelle pour contrôler leur degré de consommation par les limaces. Un peu avant le traitement et 10 jours après on estime la population en plaçant 4 pièges par parcelle ; planches de 30 cm<sup>2</sup> avec l'équivalent d'une cuiller de son en dessous et en les contrôlant le lendemain matin. Un indice de consommation des choux, de 1 à 5, est affecté une semaine après traitement.

Un certain nombre de paramètres doivent être retenus lorsqu'on veut aborder le problème de l'estimation des populations que nous avons évoqué : disposition des parcelles, séparation des parcelles, disposition des granulés à la surface, contrôle de l'efficacité du produit, persistance.

Les premiers essais importants de plein champ que nous avons réalisés en 1960 (1) dans un terrain expérimental de l'I. N. R. A. (Isneauville, S. Mme) sur un ensemble de 36 carrés de 36 m<sup>2</sup> chacun, séparés par des allées, avec 4 répétitions, nous ont montré la difficulté de l'expérimentation. Sur ces carrés, moitié semés en graminées, moitié en légumineuses, étaient déposés 5 tas de granulés, un au centre, les autres à 1 m de chaque angle, donc à 2 m 50 les uns des autres. Le contrôle est plus aisé avec cette technique car l'épandage des granulés à la volée ne permet pas de les retrouver sous la végétation. D'autre part, ARNOUX et RITTER (1954) ont prouvé l'inutilité d'un espacement des tas inférieur à 1 m. Des essais ultérieurs, en luzernières, utilisent même un seul tas pour 2 m<sup>2</sup>. Des essais tels que ceux d'Isneauville, réalisés en multicarrés latins, sous une couverture végétale, durant une semaine, sont peu pratiques car la récupération des limaces à chaque contrôle demande trop de temps. Plus de 800 individus morts ont dû être répertoriés mais nous n'avons pu connaître la population réelle.

Des essais, également relatifs à l'action de granulés à base de métaldéhyde, ont été ensuite entrepris dans une bande de 36 parcelles expérimentales (Isneauville, S. Mme) de graminées et de légumineuses, chacune mesurant 1 x 0,6 m, séparées par des allées de 0,15 m. Dans les graminées, comportant 3 rangs par parcelle, il était aisé de déposer 2 tas de 10 granulés (espace 0,40 m) par interligne et dans les trèfles, trop denses, 3 tas (espace 0,25 cm) dans les allées de séparation. Un tel système draine parfaitement les populations existantes mais les comptages rendent évidente une certaine dispersion des limaces malades (avec les produits au méta seulement) faussant les pourcentages d'action et d'autant que la couverture végétale est plus dense. Toutefois, le système des blocs est plus pratique que celui des carrés latins. C'est celui qui est actuellement adopté; exemple : essai de 5 produits par le Service de Protection des Végétaux du Languedoc, en 1971, avec 5 blocs de 5 parcelles élémentaires de 10 x 2 m, séparés par un interligne, dans un semis de ray-grass en verger de poiriers, avec épandage en semis et contrôle sur 6 jours.

Dans tous ces essais, une estimation des densités de populations en place est faite en poursuivant le traitement : on épuise les survivants par des épandages de quantités importantes d'appâts au métaldéhyde. Il faut 4 à 6 semaines, selon MOENS, pour récupérer l'ensemble de la population.

Dans un essai réalisé dans l'Eure en octobre 1968 (2), sur un champ de colza, nous avons adopté le protocole suivant : des comptages dans la partie haute de la végétation montraient une densité de 100 à 150 individus/m<sup>2</sup>. Une série de 20 sondages de 0,07 m<sup>2</sup> donna un niveau de 71 *Agriolimax* sp. et 31 *Arion* sp. par m<sup>2</sup>. Pour un essai de 4 produits, on réalisa un bloc de 25 parcelles de 10 x 4,5 m, soit 5 parcelles à 5 répétitions et un bloc annexe à 2 répétitions. Une série de 32 sondages autour du bloc donna une densité de 29 *Agriolimax*/m<sup>2</sup>. Les comptages des limaces mortes furent faits au nombre de 4 par parcelles, à l'intérieur d'un cadre de 1 m<sup>2</sup>, le lendemain du traitement, puis 3, 7 et 14 jours après. L'estimation de la population restant vivante était faite à chaque contrôle, à l'aide de 2 sondages par parcelle, soit 70 sondages à chaque fois. Une telle méthode est assez précise mais demande beaucoup de temps. Son coefficient d'erreur est lié à celui des sondages, donc à la distribution des limaces sur le terrain.

Toutes ces considérations et les résultats des essais ont servi à l'établissement d'un projet de protocole présenté à la Commission des Essais Biologiques, en 1970 (rapporteur C. MALLET) pour normaliser les essais de plein champ en France.

## II - PRODUITS A L'ESSAI - OBSERVATIONS

Il n'est pas dans notre propos de donner la liste des fabrications testées depuis 1960 pour toutes les firmes qui en ont fait la demande. Les résultats en sont strictement réservés aux intéressés et ne sont pas publiés. De nombreuses publications ont paru, par ailleurs, sur l'emploi des produits à base de métaldéhyde et de carbamates.

(1) Avec la collaboration technique de Raymond GAUDIN.

(2) Avec Claude MALLET (Pfizer-France) et la collaboration technique de Claude DOUYER.

L'ensemble des travaux durant lesquels nous avons testé environ 30 fabrications granulées, 20 poudres et 15 poudres à émulsionner, permet de formuler un certain nombre de remarques.

#### 1) REMARQUES RELATIVES AUX APPATS

Nous avons vu combien l'appétence est un facteur essentiel pour juger de la valeur d'un granulé. Jusqu'alors la meilleure base des granulés est le son, mais l'adjonction d'appétents supplémentaires augmente bien son action et ces produits peuvent entrer pour un certain pourcentage dans les 85 à 90 % que représente l'appât. Les fabricants doivent donc considérer ces adjuvants.

Par contre, certaines farines, comme la farine de luzerne peresée en granulés, se révèlent sans appétence. Pour l'emploi de balles de riz, il est plus difficile de conclure car l'action des granulés dépend aussi de la manière dont ils sont tassés. D'un ensemble de 12 essais réalisés en 2 séries avec 6 répétitions, sur 10 formules de granulés au métaldéhyde, nous pouvons extraire quelques résultats (tableau 3).

Tableau III - % de mortalité de limaces obtenus avec 10 formulations granulées

Formulations	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>A. reticulatus</b>										
Essai 1	75	85	60	60	75	60	80	40	50	40
2	60	80	70	80	80	70	50	60	80	80
5	75	85	85	70	80	75	85	50	85	80
6	90	75	90	75	75	95	75	75	85	70
Moyenne des 12 essais	67	66	59	59	63	53	57	37	62	61

La variabilité des résultats de cet extrait est relative aux conditions climatiques durant les essais ce qui explique, par exemple, l'uniformité de l'essai 6.

Par contre, lorsque les conditions sont défavorables, les différences sont bien plus marquées. On voit constamment qu'un granulé très dur (n° 8) est beaucoup moins consommé que les autres, qu'un granulé riche en balle de riz (50%) ajoutée à du son (n° 9) est appétent parce qu'il gonfle et "explose" littéralement. Les 3 premières formulations avec, respectivement : 5 % méta + 93 % son + 2 % caséine ; 5 % méta + 95 % son ; 6 % méta + 94 % son, ne diffèrent que peu dans leur action. Les formules n° 4, 5, 6, 7 avec une proportion croissante de balles de riz, montrent une activité un peu moins régulière dans l'ensemble, ce qui se lit dans la moyenne des résultats.

L'adjonction d'un bon fongicide est primordiale car les limaces ne consomment pas les granulés moisiss, peut-être à cause de développements bactériens sur le son. Un certain nombre de fongicides n'offrent pas une protection supérieure à 4-5 jours et d'autres semblent répulsifs. Le fongicide idéal est celui qui, adjoint à des granulés de bonne tenue physique, gonflant par la pluie sans se déliter et gardant leur forme au moins 8 jours, empêche l'installation des moisissures. La charge destinée au durcissement des granulés et leur serrage dans les filières entrent également en jeu.

On ignore exactement le mode d'action du sol. L'amidon est très appétent pour les Mollusques et participe vraisemblablement à cette action. Les protéines solubles du son seraient particulièrement attirantes. Dans l'état actuel des recherches, le son reste la base de la fabrication, toutefois STEPHENSON (1972) a réalisé des essais de substitution par de la gélatine ou par de la gélatine durcie au formol, mais préalablement dissoute dans un extrait aqueux de son.

Enfin, la taille des granulés n'a pas donné lieu à des observations particulières. Il nous semble qu'elle doive être moyenne, selon MAILLET (1968) 40 granulés pèsent 1 gramme.

## 2) REMARQUES RELATIVES AUX MATIERES ACTIVES

Aucune remarque spéciale n'a été faite sur la qualité du métaldéhyde. Son action molluscicide est bien connue ainsi que ses limites liées aux conditions climatiques lorsqu'il est employé en granulés ou en poudre ajoutée à du son (VAN DEN BRUEL, MOENS, 1960) (GODAN, 1972). Quant à sa dose, qu'elle soit de 5 ou 6 %, les essais montrent une action identique. La diminution de concentration dans les granulés ne semble pas poser de problème dans les conditions de l'utilisation.

Par contre, l'emploi du méta sous forme d'émulsions ou de poudre mouillable ne nous a donné satisfaction dans aucun essai. Au cours d'expérimentations de pulvérisations sur du trèfle à l'intérieur des cages de terrain, avec des pourcentages différents et dans des conditions diverses, il est apparu que les limaces ne consomment pas le trèfle traité sans un certain nombre d'essai. Au contraire, elles s'enfouissent et ce manque d'activité prouve un manque d'appétence dû aux produits huileux d'enrobage, comme nous avons pu le vérifier en laboratoire.

Dans d'autres cas où le support ne semble pas répulsif, le manque de stabilité du méta, dès que le soleil réchauffe la surface des feuilles, réduit son action à néant. Le produit sublimé n'a plus aucun pouvoir molluscicide.

Le problème de l'emploi du méta sous formulation liquide reste donc entier. C'est pourquoi les carbamates ont pu sembler préférables surtout en pulvérisations. Nous avons testé tous ceux qui ont été en voie d'homologation ; certains se sont montrés très molluscicides, d'autres moins et dans ce cas l'adjonction de synergistes, souvent du méta, a été testée. La stabilité des carbamates est supérieure à celle du méta, leur action très paralysante sur les limaces, toutefois leur manque de spécificité vis-à-vis des invertébrés constitue un obstacle à leur emploi. La voie reste ouverte, en ce sens, à l'utilisation du méta s'il peut être stabilisé dans d'autres supports et à celle de produits carbamates ou autres spécifiques, ou rendus spécifiques par l'emploi de bases sélectives au goût.

\* \* \* \*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARNOUX J., RITTER M., 1954. - Etude expérimentale des modalités d'application du métaldéhyde contre les limaces. *Meded. Landbouwhoges. Opz. Gent*, 19, (3) : 571-580.
- GODAN D., 1965-1966. - Untersuchungen über die molluskizide Wirkung der Carbamate. I. Teil (1965) : Ihre Toxizität auf Nacktschnecken. *Z. Pflanzenkrankh.*, 72, 398-410. II. Teil (1966) : Abhängigkeit von Art, Grösse und Ernährung der Schnecke. *Z. angew. Zool.*, 53, 417-430.
- GODAN D., 1967. - Untersuchungen über die Wirkung der Carbamate auf Gehäuseschnecken. *Z. angew. Entomol.*, 59, 44, 385-396.
- GODAN D., 1972. - Die ökologischen Grundlagen der Prüfungsmethoden von Molluskiziden. *Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd.*, 24, (3) : 35-37.
- HUNTER P. J., 1968. - Studies on slugs of arable ground. I Sampling methods. *Malacologia*, 6, (3) : 369-377.
- MALLET C., BOUGARAN H., 1968. - Détermination de la valeur attractive des appâts sur les limaces. *Meded. Landbouwhoges. Opz. Gent*,
- MALLET C., 1968. - Experimentation sur les appâts dans la lutte contre les limaces. *Déf. Vég.*, 133, 12 p.
- MARTIN T. J., FORREST J. D., 1969. - Le développement du Mesurool-antilimace en Grande-Bretagne. *Pflanzensch. Nachricht. Bayer*, 22, (2) : 214-254.
- MOENS R., FRANCOIS E., RIGA A., VAN DEN BRUEL W. E., 1965. - Les radioisotopes en écologie animale. Premières informations sur le comportement de *Agriolimax reticulatus* Müll. *Meded. Landbouwhoges. Opz. Gent*, 30, (3) : 1810-1823.

- MOENS R., 1972. - Contrôle de l'efficacité de granulés hélicides en laboratoire. *Meded. Landbouwhoges. Opz., Gent* (sous presse).
- NEWEL P.F., 1966. - The nocturnal behaviour of slugs. *Medic. Biol.* III, 16, (3) : 146-159.
- RICOU G., 1964. - Relations entre l'activité des limaces grises et la température. *Meded. Landbouwhoges. Opz. Gent*, 29, (3) : 1071-1080.
- SOUTH A., 1964. - Estimation of slug populations. *Ann. appl. Biol.*, 53, 251-258.
- STEPHENSON J. W., 1972. - Gelatin as a carrier for S<sup>2</sup>-Cyanoethyl N- [(methylcarbamoyl) oxy] thioacetimidate, an experimental molluscicide. *Pestic. Sci.*, 3, 81-87.
- VAN DEN BRUEL W.E., MOENS R., 1960. - Les propriétés des hélicides et la protection des cultures. *C.R. IV Congr. Int. Lutte Enn. Plantes, Hambourg*, 1957, 2, 1255-1275.



## L'INFLUENCE DES HERBICIDES SUR LES LIMACES

par D. GODAN (1)

### RESUME

Des recherches sur l'influence des herbicides sur les limaces ont été réalisées avec les matières actives suivantes : Simazine (Triazine), Chlorprophame (CIPC, herbicide à base de carbamate), Dalapon (Sel de sodium de l'acide 2,2 - dichlorphonique), Linuron (urée substituée), Lenacile et Aminotriazole. Les résultats sont les suivants :

1) Pour tous les herbicides étudiés il ya une relation entre le pouvoir molluscicide et le mode d'application sur le mollusque.

2) Par contact avec la sole pédieuse, pendant la phase de locomotion sur le sol traité, les matières actives susnommées n'ont aucune influence, la mortalité correspond à la normale. Mais par voie orale, sur de la nourriture traitée, les mêmes herbicides présentent aux mêmes doses une forte toxicité : la mortalité en particulier chez les petites espèces dépasse la plupart du temps 75 %.

3) Nous n'avons mis en évidence une action répulsive des herbicides que pour le Chlorprophame et le Dalapon et pour des hautes doses de 6 et 15 kg/ha respectivement.

### SUMMARY

Researchs on the influence of herbicides on slugs were led with the following active matters : Simazin (triazin), chlorpropham (CCICP, herbicide with carbamat), Dalapon (salt of Na of the 2-2 dichlorpropionicacid), Linuron (substited urea, Lenacil and Aminotriazol. The results are :

1) For all the studied herbicides, there is a relation between the molluscicide capacity and the way of application on molluscs.

2) The active matter have no influence by touching the foot, during the locomotion on a treated area ; the death rate is normal. But by ingestion of treated foot, the same herbicides present, at the same doses, a high poisonous effect : the death rate, peculiarly by little species, is generally higher than 75 %.

3) Chlorpropham and Dalapon only are repellent, but at high doses of respective 6 and 15 kg/ha.

4) More little doses as 1 kg/ha can be attractive for slugs, but they have no more lethal power.

---

(1) Biologische Bundesanstalt für Land und Fortwirtschaft Institut für Zoologie. Berlin - Dahlem.

Comme les herbicides constituent en ce moment le plus fort contingent des produits chimiques utilisés pour la protection des végétaux, il est nécessaire de rechercher quelle est leur influence sur la biocoenose. "Aujourd'hui en BRD 70 % des surfaces en céréales, 90 à 100 % des surfaces en betteraves sucrières et environ 100 % des surfaces en maïs grains et fourrages sont traités avec des herbicides" (HURLE, 1971). Il serait souhaitable qu'un moyen de ce type puisse décimer les populations de mollusques nuisibles qui existent dans les cultures en même temps que les mauvaises herbes. Car la lutte contre les mollusques est conduite depuis plusieurs années à l'aide d'appâts le plus souvent à base de métaldéhyde, et le succès n'est pas fréquent, parce que cette substance est très dépendante des conditions climatiques et les mollusques s'en remettent bien des fois. En particulier les limaces peuvent compenser le déficit en eau provoqué par la production de mucus surabondante à la suite d'une intoxication au métaldéhyde grâce à une humidité relative de l'air importante ; dans un premier temps, elles ne viennent absolument pas au contact avec les gouttes d'eau. Plus tard, les études sur *Limax*, *Arion* et *Helix* entreprises sur le plan de l'écologie et de la physiologie du comportement prouvèrent que l'efficacité n'était pas seulement influencée par la température et l'humidité, mais aussi pour les particularités spécifiques, l'âge et le comportement, aussi bien que par l'accoutumance (GODAN, 1961).

Mais on ne doit pas penser seulement à l'effet des herbicides sur la mortalité des mollusques. Ils pourraient agir aussi comme inhibiteurs de l'alimentation, de telle manière que l'on puisse ériger une certaine protection sur les cultures menacées.

Les travaux de laboratoire devront établir si les herbicides sont toxiques pour les mollusques plutôt par contact au moment où les animaux se déplacent sur le terrain traité ou s'ils sont toxiques plutôt par ingestion de la nourriture traitée. Après on devra établir si les herbicides influencent le comportement, en agissant comme des inhibiteurs de l'alimentation.

Nous avons choisi six préparations chacune contenant une substance différente, caractérisée par sa stabilité dans le sol et son emploi dans des cultures attaquées communément par les mollusques nuisibles comme les fraisiers, plusieurs espèces de légumes (épinards et salade par exemple) céréales d'hiver, plantes fourragères (trèfle, luzerne) raves, et aussi plantes ornementales comme les plantes à bulbes, dans les vergers et les vignobles et enfin en prairie, sur taillis, en lisière de champs et en friches. La teneur en matière active des préparations expérimentées sont : simazine : 50 %, Chlorprophame (CIPC) : 50 %, Dalapon : 85 %, Linnuron : 50 %, Lenacil : 80 % et Aminotriazole : 50 %. Les temps de dégradation pour ces substances selon l'article "Fil conducteur pour l'emploi des moyens de protection des végétaux" paru dans le périodique "Gesunde Pflanzen" sont les suivants : Simazine : plusieurs mois à 1 an, Chlorprophame : 3 mois ou plus, Dalapon : 4 à 8 semaines, 2 à 3 mois dans le sol, Linuron : 3 à 4 mois, Lenacil : 5 à 6 mois et Aminotriazole : 4 à 5 mois.

Le tableau I donne une vue générale sur les herbicides employés, leur matière active, leur dosage, les espèces de mollusques, aussi bien que sur les résultats des essais de contact et d'ingestion. L'état des témoins, 20 limaces pour chaque essai, dont la mortalité sera comprise entre 0 et 5 % ne sera pas cité ici. Les doses employées correspondent à celles recommandées dans la pratique et ont été calculées pour une surface d'1/4 de cm<sup>2</sup>. La matière active se trouve sur la terre humide (80 % HR), dans des coupelles pour les essais de contacts et sur des morceaux de pommes de terre (Ø 2 cm, épaisseur 1,5 à 2 mm) pour les essais d'ingestion pour lesquels dans le tableau la quantité de matière active est donnée en µg/cm<sup>2</sup>. Après un essai, toutes les limaces sont nourries avec de la nourriture fraîche changée quotidiennement pendant une période de 10 jours pendant laquelle elles sont suivies. Les animaux proviennent d'élevages du laboratoire, et leur nombre pour chaque essai est fonction du matériel disponible. Le tableau indique les résultats par espèce.



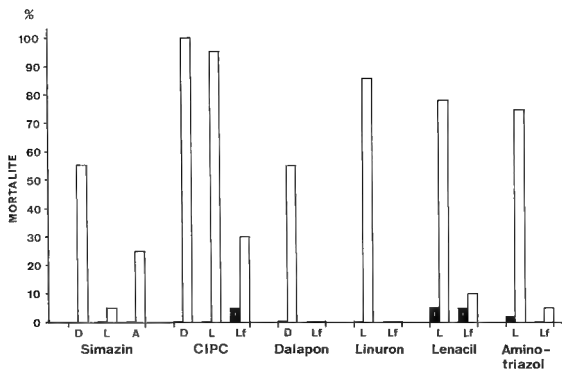


Fig. 1 Mortalité (%) par contact (colonne noire) et par ingestion (colonnes blanches) dans les substances herbicides.

D : *Deroceras reticulatum* (O.F. Müller).

L : *Lehmannia marginata* (O.F. Müller).

Lf : *Limax flavus* L.

A : *Arion rufus* L.

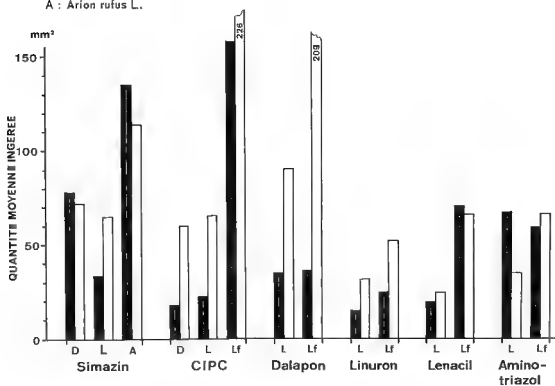


Fig. 2 Quantité moyenne ingérée (en mm<sup>3</sup>) de nourriture traitée aux herbicides (colonnes noires) en comparaison avec les témoins (colonnes blanches). Les lettres ont la même signification que ci-dessus.

Ces résultats permettent de penser que ces six herbicides peuvent avoir une action molluscicide contre les espèces de Limaces de petite taille trouvées dans les champs dans le cas où ils sont ingérés avec la nourriture et par là même introduits dans le tube digestif. Ainsi la discussion arrive à cette question : A côté de leur toxicité les herbicides auraient-ils aussi une action empêchant la nutrition de s'effectuer ?

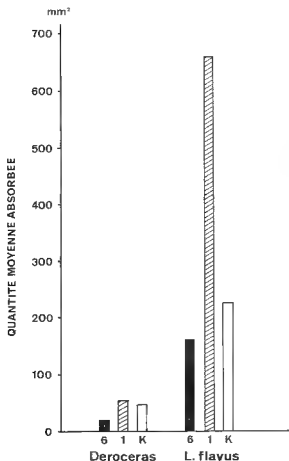
TABLEAU I - Tableau général des essais et leurs résultats

Matière active ou groupe	Dose		Limaces		Mortalité	
	kg/ha	Prép. $\mu$ g cm <sup>2</sup> WA	Espèce	Nombre	Contact	Ingestion
SIMAZINE / TRIAZINE	1,5	7,5	<i>Deroceras reticulatum</i>	40	0	-
			<i>Arion rufus</i>	20	0	-
	10	50	<i>Deroceras reticulatum</i>	80	0	55
			<i>Lehmannia marginata</i>	80	0	5
			<i>Arion rufus</i>	40	10	25
	20	100	<i>Deroceras reticulatum</i>	20	0	-
			<i>Lehmannia marginata</i>	20	0	-
			<i>Arion rufus</i>	20 jeunes	0	-
				20 vieux	10	-
CHLORPROPHAME/ HERBICIDE CARBAMATE	1	5	<i>Deroceras reticulatum</i>	20	-	0
			<i>Limax flavus</i>	20	-	0
	6	30	<i>Deroceras reticulatum</i>	60	0	100
			<i>Lehmannia marginata</i>	80	0	96
			<i>Limax flavus</i>	80	5	30
DALAPON/SEL DE DE SODIUM DE L'ACIDE DICHLOR PROPIONIQUE	15	127,5	<i>Lehmannia marginata</i>	100	0	55
			<i>Limax flavus</i>	90	0	0
LINURON/UREE SUBSTITUEE	6	30	<i>Lehmannia marginata</i>	40	0	85
			<i>Limax maximus</i>	20	10	-
			<i>Limax flavus</i>	40	0	0
LENACILE	2	16	<i>Lehmannia marginata</i>	100	5	78
			<i>Limax flavus</i>	70	5	0
			<i>Arion rufus</i>	80	10	-
AMINOTRIAZOLE	30	150	<i>Lehmannia marginata</i>	100	2	75
			<i>Limax flavus</i>	100	0	5

Les essais conduisent aux résultats suivants : Bien que l'on ait travaillé sur six groupes différents de matières actives, il y a pour tous les herbicides une dépendance entre la potentialité de mortalité et le mode d'application. Par contact avec la sole pédiée tous les herbicides se révèlent inoffensifs. La mortalité reste pour la plupart autour de 0 % et correspond à la mortalité normale observée dans un essai durant six jours. Le film de mucus empêche probablement le contact direct de l'herbicide avec la limace, le pied est ainsi isolé du substrat traité. D'un point de vue pratique on peut considérer que pour les six herbicides essayés il n'y a aucune action de contact contre les limaces.

Lorsqu'un herbicide est présenté par voie orale et qu'il est introduit sans retard dans le tube digestif, nous pouvons constater une forte mortalité (fig. 1). Dans les essais d'ingestion on présente 2 (pour les petites espèces) ou 4 (pour les grosses espèces) tranches de pommes de terre traitées pour 48 heures. La quantité absorbée fut calculée en millimètres carrés en posant les restes de la rondelle de 2 cm de diamètre sur du papier millimétré et en appelant les parties manquantes : quantité ingérée. La pesée des restes ne nous donne pas de valeur exacte et nous n'obtenons pas par ce moyen des chiffres comparables de quantités ingérées. Les doses employées dans ces essais sont celles qui sont conseillées dans la pratique : Simazine 10 kg/ha, Chlorprophame 6 kg/ha, Dalapon 15 kg/ha, Linuron 6 kg/ha, Lenacil 2 kg/ha, et enfin Aminotriazole 30 kg/ha. Pour pouvoir comparer avec l'action de contact nous avons repris les mêmes doses pour l'action par ingestion. Les petites *Limacidae* comme *Deroceras* et *Lehmannia* sont mortellement atteintes avec un pourcentage élevé par l'ingestion d'herbicide, en particulier par le Chlorprophame, le Linuron, le Lenacil et l'Aminotriazole. Il a été prouvé également (Godan, 1961, 1965, 1966) que pour le métaldéhyde et les carbamates molluscicides ces espèces se montrent plus sensibles que les grosses. Les poids des animaux d'essais furent les suivants : *Deroceras reticulatum* (O. F. Müller) environ 0,5 g, *Lehmannia marginata* (O. F. Müller) 0,5 à 1 g ; *Limax flavus* (L.) 2 à 3,4 g et *Arion rufus* (L.) 3,5 à 4,6 g.

La figure 2 montre la quantité moyenne ingérée (mm<sup>2</sup>) par 20 à 40 animaux et par essai en comparaison avec des témoins non traités. Donc le comportement alimentaire dépend de la matière active et de son dosage, mais aussi de l'espèce à laquelle appartient la limace concernée. Les herbicides suivants : Limazine, Linuron, Lenacile et Aminotriazole se sont montrés indifférents, ce dernier agit seulement contre *Limax flavus*. Cela prouve que les herbicides ne sont pas des inhibiteurs de l'alimentation. Le Chlorprophame et plus encore le Dalapon paraissent avoir une action répulsive. La quantité ingérée particulièrement faible pour *Deroceras* en comparaison avec les autres limaces doit venir de ce qu'elle préfère les aliments verts, alors que les limaces de cave peuvent être qualifiées de mangeuses de racines et de bulbes. Dans les élevages, *Deroceras* est nourrie surtout avec de la salade. Il est intéressant de remarquer que l'Aminotriazole exerce une certaine attractivité sur la petite *Lehmannia*.



Ces résultats nous conduisent à sélectionner le Chlorprophame. Cette matière active est choisie car elle est très toxique par voie orale à la dose de 6 kg/ha de préparation. Des essais d'alimentation avec la dose beaucoup plus basse préconisée dans la pratique de 1 kg/ha de préparation ne montrent plus aucune action létale, alors que les tranches de pommes de terre sont consommées en grande quantité (fig. 3). Ces résultats ne sont pas d'un grand appui à l'hypothèse proposée mais il est intéressant de constater que chez les insectes appartenant à diverses familles il existe aussi des différences de comportement vis-à-vis des insecticides en relation avec la dose (Godan, 1969). Ainsi, par exemple, le parathion a un effet répulsif à haute dose. Il devient indifférent lorsque la concentration diminue, et enfin peut devenir attractif.

Fig. 3. Quantité moyenne absorbée (en mm<sup>2</sup>) de tranches de pomme de terre traitées au Chlorprophame comparées avec des tranches non traitées.

Colonnes noires : Chlorprophame à 6 kg/ha.

Colonnes hachurées : Chlorprophame à 1 kg/ha.

Colonnes blanches : Témoins.

## ANNEXE

### SIMAZINE

- 2 - Chlor - 4,6 - bis éthylamino-s-triazine
- =  $C_7H_{12}ClN_5$

### CHLORPROPHAME

- N - (3 - Chlorphenyl) - isopropyl - carbamate,
- Isopropyl - N - (3 - chlorphenyl) - carbamate
- =  $C_{10}H_{12}ClNO_2$
- = CIPC

DALAPON	= Sel de Na de l'acide 2, 2 - dichlorpropionique = $C_3H_3Cl_2O_2Na$
LINURON	= 3 - (3, 4 - Dichlorphenyl) - 1 - methoxy - 1 - methyl - urée = $C_9H_{10}Cl_2N_2O_2$
LENACILE	= 3 - Cyclohexyl - 5, 6 - trimethylenuracile ou 3 - Cyclohexyl - 6, 7 - dihydro - 1 H - cyclopentapyrimidine - 2, 4 - (3 H, 5 H) - dion = $C_{13}H_{18}N_2O_2$
AMITROLE	= 3 - Amino - 1, 2, 4 - triazole = $C_2H_4N_4$

\* \* \* \*

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- GODAN (D.), 1959. - Untersuchungen über den Einfluss organischer Phosphorpräparate auf das Verhalten von Insekten. **Z. Pflanzenkrankh.** 66, 338-355.
- GODAN (D.), 1961. - Untersuchungen über die Wirksamkeit von Metaldehydködern auf Nacktschnecken unter Berücksichtigung ihrer Verhaltensweisen. **Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzd.** (Braunschweig) 13. 113-119.
- GODAN (D.), 1965. - Untersuchungen über die molluskizide Wirkung der Carbamate. I. Teil · Ihre Toxizität auf Nacktschnecken **Z. Pflanzenkrankh.** 72, 398-410.
- GODAN (D.), 1966. - Untersuchungen über die Molluskizide Wirkung der Carbamate. II. Teil : Abhängigkeit von Art, Grösse und Ernährung der Schnecken. **Z. angew. Zool.** 53, 417-430.
- HURLE (K.), 1971. - Wie steht es mit dem Abbau von Herbiziden im Boden ? **Mitt. DLG**, H. 21.

ETUDE DE L'ULTRASTRUCTURE DE L'EPITHELIUM DORSAL ET PEDIEUX  
DES LIMACES ARION HORTENSIS FERUSSAC ET AGRIOLIMAX RETICULATUS (Müller)

par P.J. NEWELL (1)

RESUME

On a fait une étude générale de l'épithélium dorsal et pédieux en microscopie électronique chez deux espèces communes de limaces, *Arion hortensis* Ferussac et *Agriolimax reticulatus* Müller. Les épithéliums dorsaux sont très semblables, les cellules ont leur surface apicale couverte de microvillosités et possèdent dans leur partie apicale un grand nombre de mitochondries. Elles sont reliées aux cellules adjacentes par des jonctions septales. L'épithélium pédieux montre plus de différences selon les espèces, *A. hortensis* possédant moins de cils que *A. reticulatus*. Par contre les cellules présentent des microvillosités et de nombreuses mitochondries.

Les cellules de ces deux épithéliums possèdent plus de structures semblables à celles des cellules des épithéliums absorbants, comme les cellules de la glande digestive chez les mollusques, qu'à celles des cellules de la peau des mammifères. On discute ici des fonctions possibles de cet épithélium.

SUMMARY

An electron microscopic survey has been made of the epithelia covering the dorsal surface, and that covering the foot, of two common species of slug, *Arion hortensis* and *Agriolimax reticulatus*. The dorsal epithelia were very similar, the columnar cells have their apical surface covered in microvilli and, apically, are well supplied with mitochondria. They are joined to adjacent cells by septate junctions. The epithelia of the foot showed differences between the species, *A. hortensis* being less ciliated than *A. reticulatus*. Again the cells have microvilli and many mitochondria.

Both the cells from the dorsal surface and foot epithelia have more features in common with cells from absorptive epithelia, like cells from molluscan digestive gland than with cells from mammalian skin. The possible functions of this epithelium are discussed.

\* \* \* \*

INTRODUCTION

L'épithélium qui recouvre le corps des pulmonés terrestres a été l'objet de plusieurs études mais la plupart concernaient la régénération de la coquille chez les escargots (Abolins-Krogis 1968, Saleuddin, 1970; Ganagarajah et Saleuddin, 1972). D'autres chercheurs ont travaillé sur des glandes caractéristiques de l'épithélium de plusieurs espèces comme Barr, 1927, par exemples sur *Arion ater* et Campion, 1961, sur *Helix aspersa*. L'épithélium qui forme la peau est la couche la plus externe

(1) Department of Zoology, University of London, Westfield College, Kidderpore Avenue, Hampstead - London NW3 7 ST.

de l'animal et c'est aussi la première à être en contact avec le milieu. Le rôle de cet épithélium n'est pas encore complètement compris mais il est bien connu que c'est le siège de la perte la plus importante en eau (Howes et Welles, 1934 a et b, Machin 1964 a, b, c, Schmidt-Nielsen et al - 1971). Ses autres fonctions telles que sa participation aux échanges gazeux à l'absorption d'eau, son rôle de surface excrétrice et de récepteur sensoriel envers des stimuli divers du milieu sont bien moins étudiées.

Chez les espèces d'importance économique la peau est le premier point de contact avec les molluscicides. A présent on n'utilise aucun molluscicide de contact spécifique contre les mollusques terrestres en dépit de leur développement et de leur extension contre les espèces lacustres et fluviales. Le but de cette étude est d'examiner la structure de cet épithélium et de faire une relation avec le type de substances pouvant le traverser.

## MATERIEL ET METHODES

Des spécimens adultes de deux limaces, *Arion hortensis* et *Agriolimax reticulatus* sont récoltés dans les champs et des prélèvements de tissu sont effectués sur la surface dorsale juste derrière le manteau ainsi sur le pied. De petits morceaux de tissu excisé, à peu près de 1 mm<sup>2</sup>, sont placés dans des tubes de fixateur frais.

On utilise deux procédés de fixation différents. Premièrement, on utilise à une température inférieure à 0° C une solution de glutaraldéhyde à 1% contenant de l'acroléine à 1% dans un tampon à 100 m M de cacodylate de sodium, pH 7,6, pendant 2 heures. Après rinçage dans le tampon le tissu est placé dans une solution de tétraoxyde de sodium à 2% dans un tampon à 100 m M de cacodylate de sodium et à 4° C pendant encore 2 heures. Le second fixateur utilisé est une solution de permanganate de potassium à 2% dans de l'eau du robinet, pH 7,8, à température ambiante pendant 2 heures.

Le matériel fixé est ensuite déshydraté dans une série d'alcools, de plus en plus concentrés, lavé dans de l'oxyde de propylène puis inclus soit dans de l'araldite, soit dans de la résine TAAB. Le tissu est coupé soit avec un ultramicrotome Huxley, soit avec un Reichert utilisant des couteaux de verre et les coupes sont teintées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Les coupes sont examinées au microscope électronique AEI 801 B.

## RESULTATS

### EPITHELIUM DORSAL

La peau formant la surface dorsale des deux limaces a une structure comparable mais les deux espèces peuvent se distinguer grâce à la présence de nombreux granules de mélanine dans le tissu conjonctif sous l'épithélium chez *Arion hortensis* (photo 1) alors qu'ils sont absents chez *Agriolimax reticulatus* (planche 2). Ces cellules appartiennent à un épithélium (en colonne), elles ont un gros noyau central placé près de la base de la cellule. La membrane apicale est plissée en une série de microvillosités qui ont une structure axiale microtubulaire. A partir de cette membrane on peut souvent voir de fins microfilaments (photo 3). Le cytoplasme apical de ces cellules contient un grand nombre de mitochondries qui présentent des crêtes bien développées (photos 4 et 11). Le matériel fixé à l'aldéhyde et à l'osmium montre aussi les cystes bien développés du réticulum endoplasmique et les détails des nucléi (photo 4). Dans la plupart des cellules on remarque au moins un et parfois plusieurs corps de Golgi bien constitués (photo 2).

A la base des cellules il y a une lame basale mince de mucopolysaccharide qui aboutit à un tissu connectif rempli de lymphes (c'est-à-dire du sang débarrassé du pigment respiratoire, l'hémocyanine). Le tissu conjonctif contient des faisceaux de fibres musculaires lisses, du collagène, des amœbocytes et, chez *Arion hortensis*, de nombreux granules noirs de mélanine.

Les membranes latérales plasmatiques de ces cellules épithéliales se joignent en formant des jonctions septales (photo 3) typiques mais il n'y a pas ici de grands espaces intercellulaires. De nombreux vaisseaux sanguins viennent contre la base des cellules épithéliales, ce qui renforce l'hypothèse que la peau doit être un site important d'échanges gazeux (photos 5 et 6).

Quelques cellules de la surface dorsale sont ciliées (photo 7) et en bien d'autres endroits l'épithélium est traversé par les conduits de grosses glandes à mucus qui sont profondément enfoncées dans le tissu conjonctif situé au-dessous de l'épithélium. Dans quelques cas on observe des structures qui semblent être des glandes contenant des mucoprotéines non hydratées. Les glandes à mucus sont souvent intimement associées à des espaces lymphatiques d'où elles tirent probablement l'eau et les acides aminés à partir desquels les sécrétions sont fabriquées. Ces glandes à mucus sont souvent associées à des structures membranaires inhabituelles, à leur base, visibles en particulier sur la photo 2.

#### EPITHELIUM DU PIED

L'épithélium du pied de *A. hortensis* (photo 8) diffère de celui de *A. reticulatus* en particulier par le degré de ciliation, le dernier ayant beaucoup plus de cils que le premier. Chez les deux espèces les cellules non ciliées portent de nombreuses microvillosités qui présentent des microtubules axiaux. Les cils sont mobiles et ont un arrangement de 9 filaments périphériques + 2 filaments axiaux typiques. De grandes glandes à mucus ont des conduits qui traversent l'épithélium amenant la sécrétion des cellules glandulaires noyées dans le tissu conjonctif à la surface du pied. Le cytoplasme apical des cellules épithéliales possède une population dense de mitochondries pourvues de crêtes bien développées. Les jonctions entre cellules sont du même type que celles de l'épithélium dorsal. Plusieurs corps de Golgi bien développés sont visibles dans chaque cellule.

À la base de l'épithélium il existe une lame basale de mucopolysaccharides qui sépare ces cellules du tissu conjonctif rempli de liquide. Des vaisseaux sanguins, des amœbocytes, du collagène et des muscles lisses se rencontrent dans cette couche sous-épithéliale (photo 11). Chez ces deux espèces aucun granulé de pigment ne fut mis en évidence dans le tissu du pied.

#### DISCUSSION

La structure de l'épithélium dorsal et de celui du pied chez ces deux espèces possède des ressemblances étroites avec la structure du manteau d'*Helix pomatia* (Saleuddin, 1970). D'autres invertébrés à peau humide, comme la Planaire, *Polycelis tenuis* (Skaer, 1961) et d'autres *Turbellariae* (Dorey, 1965) montrent des structures communes avec celles décrites pour la peau de la limace.

La perméabilité à l'eau de ces épithéliums est bien connue (Machin, 1964) et les limaces aussi bien que les escargots sont capables d'augmenter leur poids frais, soit par immersion dans l'eau, soit en rampant sur un substrat humide. Ce processus peut s'accomplir par osmose, les microvillosités constituant une augmentation importante de la surface apicale, ce qui a pour conséquences d'augmenter la vitesse de l'équilibration osmotique. Cependant la présence de nombreuses mitochondries suggère que ces cellules doivent dépenser une grande quantité d'ATP qui doit en retour être régénéré par un quelconque système de régénération. Récemment, Fromter et Diamond (1972) travaillant sur la vessie de *Necturus*, Skelding (1972) travaillant sur le rein d'*Achatina achatina* et Newell et Skelding (1972 et sous presse) travaillant sur le rein d'*Helix pomatia* ont suggéré que les jonctions septales doivent être des canaux par lesquels se produisent de grands mouvements de fluide.

Machin, 1965, propose pour *Helix aspersa* la possession d'"une couche cuticulaire de 2 µ d'épaisseur à la surface du tégument" qui servirait à limiter le taux de la perte en eau. Certainement, chez les limaces *A. hortensis* et *A. reticulatus* il n'y a aucune preuve qu'une telle barrière existe. Cependant la plupart des épithéliums permettant le passage des liquides montrent une spécialisation de la structure fine typique. Ils doivent posséder une bordure apicale riche en microvillosités, des mitochondries abondantes, une membrane plasmique latérale extrêmement plissée, de larges espaces intercellulaires et une membrane basale plissée. La peau des limaces montre certaines, mais pas toutes, de ces modifications et en l'absence de toute confirmation expérimentale il est impossible d'attribuer à ces structures un rôle dans un processus de transfert actif.

Ce qui est certain c'est que ces cellules ont plusieurs points communs avec des cellules de divers tissus absorbants ou sécrétors, comme les cellules de la glande digestive d'*Anodonta* (Summer, 1966), les cellules de la glande digestive d'*Helix*, *Succinea* et *Testacella* (Summer, 1965), le manteau d'*Helix* (Saleuddin, 1970) et la muqueuse intestinale des Mammifères. Elles ont peu de points communs avec les cellules de l'épiderme des Mammifères ou de la cuticule des Insectes. Donc les cellules de la peau des limaces semblent avoir des spécialisations structurales en commun avec

des épithéliums absorbants. Il y a de nombreuses raisons à cela, premièrement cela représente évidemment des modifications pour faciliter l'entrée d'éléments à l'intérieur de l'animal et, deuxièmement, le développement des microvillosités et des microfilaments peut représenter une adaptation pour permettre au mucus d'être étendu en une couche fine sur toute la surface de la peau. La présence de nombreuses mitochondries dans les cellules semble indiquer leur participation active au métabolisme de ces animaux.

On a montré que dans le manteau d'*Helix pomatia* qui répare sa coquille (Ganagarajah et Saleuddin, 1972) il y a des phosphatases acides, une cytochrome oxydase, une phosphatase alcaline et une ATP-ase. Il n'est pas surprenant que l'épithélium transporte des acides aminés et le calcium pour réparer la coquille et les enzymes nécessaires pour mobiliser ces substances. Cependant de tels systèmes enzymatiques peuvent être empoisonnés par des composés tels que la ouabaine, la phlorhizine et la phlorétine. Si ces enzymes peuvent être mis en évidence dans la peau des espèces de pulmonés terrestres, alors il ne restera plus qu'à trouver un molluscicide de contact qui pourra s'opposer à l'un de ces systèmes enzymatiques.

On doit donc trouver de nouveaux molluscicides parmi les composés connus pour être des poisons métaboliques, pouvant pénétrer rapidement les épithéliums riches en enzymes, bien pourvus en glandes à mucus, comme quelques épithéliums présents dans l'intestin des vertébrés.

## REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont au Dr. J. Skelding pour les discussions nombreuses et utiles que nous avons eu pendant toute la durée de ce travail, et à Mr. D. Hodge pour son assistance technique considérable à tous les stades du projet. Je dois aussi exprimer tous mes remerciements à Miss J. Warn et Mr. J. Dodds pour leur aide dans la préparation des coupes.

\* \* \* \*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABOLINS - KROGIS, A. 1968. - Shell regeneration in *Helix pomatia* with special reference to the elementary calcifying particles. *Symp. zool. Soc. Lond.* 22 ; 75-92.
- BARR, R.A. 1927. - Some notes on the mucous and skin glands of *Arion ater* Quart. *J. Micr. Sci.* 71; 503-525.
- CAMPION, M. 1961. - The structure and function of the cutaneous glands in *Helix aspersa*. *Quart. J. Micr. Sci.* 102 ; 195-216.
- DOREY, A.E. 1965. - The organisation and replacement of the epidermis in acelous turbellarians. *Quart. J. Micr. Sci.* 106 ; 147-172.
- FROMTER, E. AND DIAMOND, J. 1972. - Route of passive ion permeation in epithelia. *Nature. Lond. New Biol.* 235 ; 9-13.
- GANAGARAJAH, M. AND SALEUDDIN, A.S.M. 1972. - Electron histochemistry of the outer mantle epithelium in *Helix pomatia* during shell regeneration. *Proc. malac. Soc. Lond.* 40 ; 71-77.
- HOWES, N.H. AND WELLS, G.P. 1934 a. - The water relations of snails and slugs. 1. Weight rhythms in *Helix pomatia* L. *J. exp. Biol.* 11 ; 327-343.
- HOWES, N.H. AND WELLS, G.P. 1934 b. - The water relations of snails and slugs. 2. Weight rhythms in *Arion ater* L. and *Limax flavus* L. *J. exp. Biol.* 11 ; 344-361.
- MACHIN, J. 1965. - Cutaneous regulation of evaporative water loss in the common garden snail, *Helix aspersa*. *Naturwissenschaften* 52 ; 18.
- MACHIN, J. 1966. - The evaporation of water from *Helix aspersa*. 4. Loss from the mantle of the inactive snail. *J. exp. Biol.* 45 ; 269-278.



- NEWELL, P. F. AND SKELDING, J. M. 1972. - Studies on the permeability of the septate junction in the kidney of *Helix pomatia* L. *Malacologia* (in press).
- SALEUDDIN, A. S. M. 1970. - Electron microscopic study of the mantle of normal and regenerating *Helix*. *Can. J. Zool.* 48 ; 409-416.
- SCHMIDT - NIELSEN, K., TAYLOR, C. R., AND SHKOLNICK, A. 1971. - Desert snails : Problems of heat, water and food, *J. exp. Biol.* 55 ; 385-398.
- SKAER, R. J. 1965. - The origin and continuous replacement of epidermal cells in the planarian, *Polycelis tenuis* (Iijima). *J. Embryol. exp. Morph.* 13 ; 129-139.
- SKELDING, J. M. 1972. - Studies on the renal physiology of *Achatina achatina* (L.) *Malacologia* (in press).
- SUMMER, A. T. 1966. - The fine structure of digestive gland cells of *Helix*, *Succinea*, and *Testacella*. *J. R. micr. Soc.* 85 ; 181-192.
- SUMMER, A. T. 1966. - The fine structure of the digestive gland cells of *Anodonta*. *J. R. micr. Soc.* 85 ; 417-423.

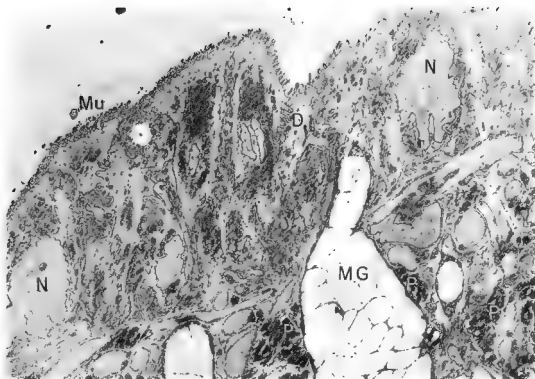


Photo 1 - Photographie prise au microscope électronique (à faible énergie) d'une coupe verticale de l'épithélium dorsal d'*Arion hortensis*. Les cellules de l'épithélium sont en fûts de colonne, possèdent un gros noyau (N) et sont liées par des jonctions septales et des desmosomes (D). Les microvillosités retiennent encore une couche de mucus sécrétée par les glandes à mucus (MG) qui sont enfouies dans le tissu conjonctif sous l'épithélium. Le tissu conjonctif comporte des granules de pigment (P) et des fibres musculaires lisses. Coupe fixée au permanganate de potassium, ombrée à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb. Grossissement  $\times 5000$ .

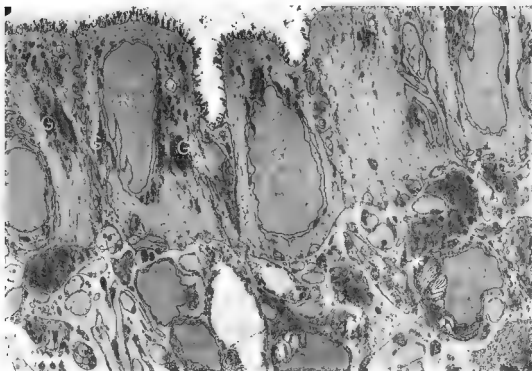


Photo 2 - Photographie prise au microscope électronique (à faible énergie) d'une coupe verticale de l'épithélium dorsal d'*Agriolimax reticulatus*. Les cellules possèdent un gros noyau (N) et un appareil de Golgi bien constitué (G). On peut voir nettement les mitochondries à la partie apicale du cytoplasme. L'astérisque (\*) marque la spécialisation de la membrane que l'on trouve souvent près du noyau dans les glandes à mucus. Coupe fixée au permanganate de potassium matériel non ombré. Grossissement  $\times 4750$ .



Photo 3 - Détail de la jonction septale et des microvillosités de l'épithélium dorsal d'*Agriolimax reticulatus* montrant la série de microfilaments sur la partie apicale de la membrane plasmatique (A). Le desmosome (D) à l'extrémité latérale est une membrane unique. Coupe fixée au permanganate de potassium, ombrée à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb. Grossissement  $\times 80\,000$ .

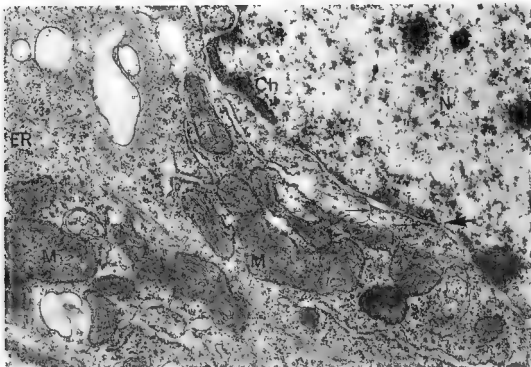


Photo 4 - Détail du noyau et du cytoplasme d'une cellule appartenant à l'épithélium dorsal de *A. reticulatus*. Le noyau (N) montre une couche de chromatine (Ch) opaque aux électrons au niveau de la membrane nucléaire qui est percée (flèche épaisse) d'une fenêtre. Les mitochondries (M) possèdent des crêtes bien développées et le reticulum endoplasmique (ER) supporte les ribosomes (flèches fines). Coupe fixée à l'aldéhyde et à l'osmium, ombrée à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb. Grossissement  $\times 31\,000$ .

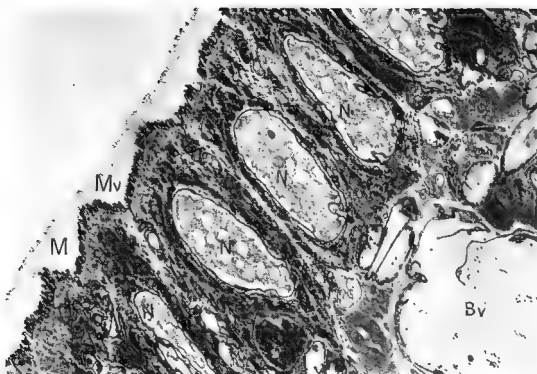


Photo 5 - Vue générale de l'épithélium dorsal de *A. hortensis* montrant un gros vaisseau sanguin à la base des cellules (Bv). Le tissu conjonctif (Ct) rempli de lymph baigne la lame basale de l'épithélium. Coupe fixée au permanganate de potassium, matériel non ombré. Grossissement  $\times 7750$  (Electron, à basse énergie).

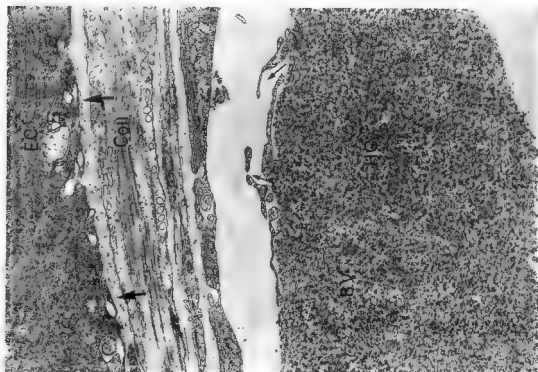


Photo 6 - Détail d'un capillaire sanguin (Bv) d'un épithélium dorsal de *A. reticulatus*. Noter la proximité des cellules épithéliales (EC) qui montrent une lame basale bien développée (flèche). Les cellules épithéliales sont séparées du vaisseau sanguin par du tissu conjonctif lâche contenant du collagène (Coll). L'haemocyanine (HCy) est limitée par l'endothélium du vaisseau sanguin qui semble être un capillaire à fenêtres (petites fenêtres). Coupe fixée à l'aldéhyde et à l'osmium, matériel ombré à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb. Grossissement  $\times 20\,000$ .

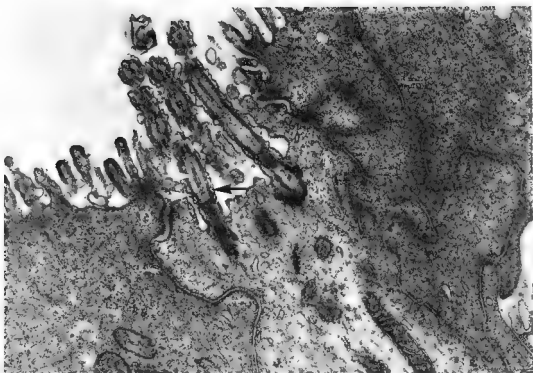


Photo 7 - Détail de cils appartenant à l'épithélium dorsal de *A. reticulatus*. Les cils montrent des corps basaux (BB) et de grosses flèches montrent les filaments axiaux. Les septums des jonctions septales sont indiqués par de fines flèches blanches. Coupe fixée à l'aldéhyde et à l'osmium, ombrée à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb. Grossissement  $\times 32000$ .

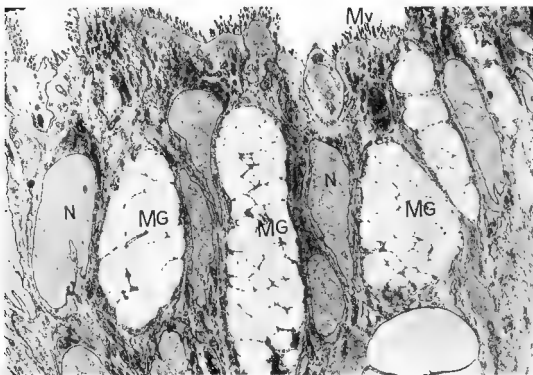


Photo 8 - Micrographie (électron, à faible énergie) d'une coupe de pied d'*Arion hortensis*. Noter les microvillosités (Mv) à l'apex des cellules et les nombreuses glandes à mucus (MG). Juste à droite du centre de cette microphotographie il y a une cellule d'un type peu courant, il est possible que cela soit un type de mécanorécepteur. Coupe fixée au permanganate de potassium et ombrée à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb. Grossissement  $\times 4750$

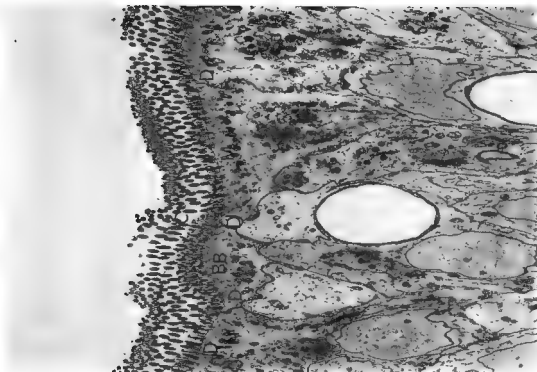


Photo 9 - Microphotographie du pied d'*A. reticulatus* (électron, à faible énergie). Ces cellules sont densément ciliées. On peut voir de nombreux corpuscules basaux (BB) à l'apex des cellules. Les mitochondries apicales (M) et les desmosomes (D) sont aussi présents. Coupe fixée au permanganate de potassium et ombrée à l'acétate d'uranyne et au citrate de plomb. Grossissement  $\times 5500$ .

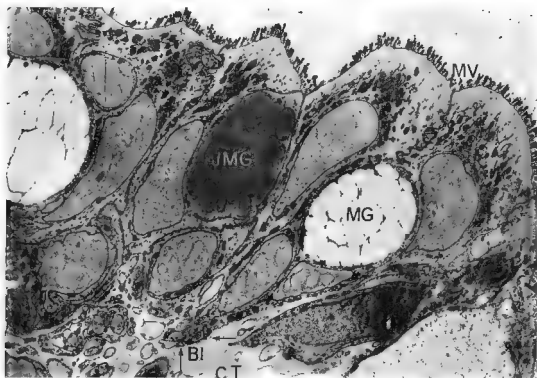


Photo 10 - Microphotographie du pied d'*A. hortensis* (électron, à faible énergie) montrant probablement une glande à mucus à l'état jeune, ne sécrétant pas (JMG), contenant des mucoprotéines non hydratées. La lame basale (Bl) de l'épithélium est indiquée par des flèches. Coupe fixée au permanganate de potassium, ombrée à l'acétate d'uranyne et au citrate de plomb. Grossissement  $\times 5000$ .

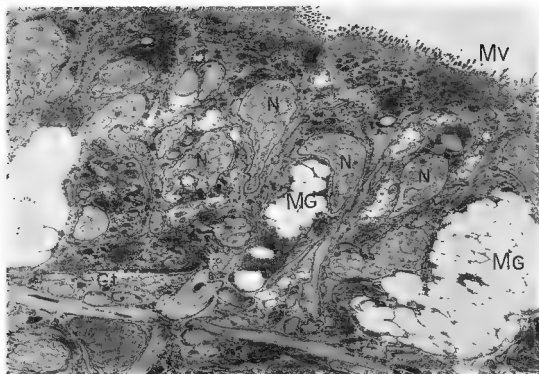


Photo 11 - Vue générale du pied chez *A. hortensis* montrant les faisceaux de muscles lisses sous l'épithélium. L'apex des cellules est bien garni en mitochondries. Coupe fixée au permanganate de potassium et ombrée à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb. Grossissement  $\times 4750$ .





# INTERET DES ESPECES *Cepaea nemoralis* L. ET *Cepaea hortensis* MULL. POUR L'ETUDE DES FACTEURS DU POLYMORPHISME

par M.A. GUERRUCCI (1)

## RESUME

Les espèces *Cepaea nemoralis* et *C. hortensis* se prêtent bien à une étude de polymorphisme génétique. Elles possèdent 4 caractères dont le déterminisme est simple. Toutes les populations comprennent un grand nombre de variétés dont les fréquences sont, de plus, diverses. Les fréquences varient en fonction des facteurs du milieu, notamment des caractères du microclimat. Cependant les fréquences peuvent varier indépendamment du milieu et une hypothèse les relierait à l'action de facteurs fortuits, liés à un effectif limité des populations.

## SUMMARY

Using the species *Cepaea nemoralis* and *C. hortensis* is convenient to study genetic polymorphism. They possess 4 characteristics : their genic determinism is easy. A large lot of varieties is available in every population, and variety frequencies are very different. Frequencies depend on environmental factors, microclimate especially. However, frequency variations can happen without connecting the environment but, in case of limited populations, the action of random factors could be supposed.

\* \* \* \*

La plupart des espèces animales ou végétales présentent un important polymorphisme génétique et de nombreux auteurs se sont attachés à en déterminer la signification adaptative.

Pour définir la nature et estimer la valeur des différents facteurs qui déterminent la composition génétique d'une population, on peut utiliser une méthode expérimentale qui consiste à reproduire le processus d'adaptation en contrôlant ces facteurs au cours d'un grand nombre de générations. Il est également possible de substituer à l'observation d'une population au cours du temps, l'examen simultané de diverses populations dont on sait qu'elles sont en situation stationnaire.

Les espèces *Cepaea nemoralis* et *Cepaea hortensis* se prêtent particulièrement bien à une étude de ce type. Communes en France, elles vivent en effet en colonies relativement importantes (1000 individus en moyenne) assez régulièrement distribuées sur le terrain et généralement isolées les unes des autres, car les individus se déplacent peu dans des conditions normales.

---

(1) Laboratoire de Zoologie, Ecole Normale Supérieure, 46 rue d'Ulm - 75005-PARIS.

La plupart des caractères étudiés sont lus sur la coquille et ont un déterminisme génétique simple. Ce sont :

- la coloration du fond de la coquille, qui peut être jaune, rose ou brune,
- le nombre de bandes qui l'ornent (la forme typique comporte 5 bandes qui peuvent être numérotées de 1 à 5 avec présence ou absence de chacune d'entre elles, d'où 32 combinaisons possibles),
- la pigmentation des bandes,
- la pigmentation du péristome.

Si l'on excepte les caractères de pigmentation du péristome (chez *Cepaea nemoralis* le péristome est généralement noir tandis que chez *Cepaea hortensis* il est le plus souvent blanc), les principales variétés observées dans une espèce se retrouvent chez l'autre avec une hiérarchie des fréquences assez comparable. A cette similitude qualitative et quantitative des phénotypes observés s'ajoute un parallélisme entre les mécanismes de transmission des divers caractères ; en particulier, les 4 locus des principaux gènes du polymorphisme sont étroitement liés dans chacune des deux espèces.

Le polymorphisme est caractérisé chez *Cepaea* par la coexistence, dans presque toutes les populations, d'un grand nombre de variétés (Tableau I).

TABLEAU I : Composition variétale d'une population de *Cepaea hortensis* de la vallée de l'Aunay (Eure-et-Loir)

PHENOTYPES	JAUNES		ROSES		BRUNS	
	Péristome blanc	Péristome coloré	Péristome blanc	Péristome coloré	Péristome blanc	Péristome coloré
00000	56	7	-	9	1	-
bandes normalement pigmentées						
00300	-	-	-	-	-	-
10305	3	3	-	-	-	-
10345	2	3	-	-	-	-
12345	14	12	-	6	-	-
bandes à pigmentation réduite						
00300	-	-	-	1	-	-
10305	1	-	-	-	-	-
10345	1	-	-	1	-	-
12345	5	1	-	9	-	-

Il se caractérise de plus par une grande diversité de leurs fréquences entre les populations. L'analyse de relevés effectués en France dans plus de 4000 populations de *Cepaea nemoralis* et de 900 populations de *Cepaea hortensis* montre que peu de colonies ont des compositions identiques en ce qui concerne les fréquences des divers caractères.

Les facteurs susceptibles de déterminer l'équilibre d'allèles dans une population, en l'absence d'homogamie, sont la sélection, les mutations, les migrations ainsi que les facteurs de nature fortuite. Ces divers facteurs agissent simultanément, mais leur importance relative peut varier pour chaque groupe d'allèles. Si l'un de ces facteurs joue un rôle prédominant sur l'équilibre des allèles situés à un locus donné, il doit être possible de le mettre en évidence, particulièrement s'il s'agit d'un facteur sélectif. Ainsi, si l'un des facteurs du milieu exerce une forte pression sélective sur un caractère, on devra observer une corrélation entre les variations de la fréquence du caractère et la valeur de ce facteur.

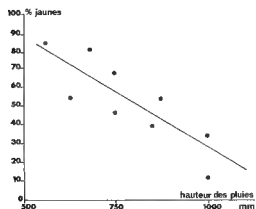
Lamotte (1966) a souligné de cette manière l'importance des facteurs climatiques. Il a montré en particulier que les variations d'une région à l'autre de la fréquence moyenne du caractère sans bandes chez *Cepaea nemoralis* sont en liaison avec celles de la température (Tableau II et III).

Tableau II : Fréquence moyenne de la forme sans bandes (00000) chez *Cepaea nemoralis* en fonction de la température moyenne du mois de juillet (d'après Lamotte 1966)

Température moyenne de juillet	16-18°	18-19°	19-20°	20-21°	>21°
Fréquence moyenne des 00000 (%)	22	24	26	29	30

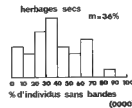
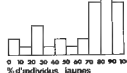
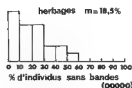
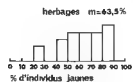
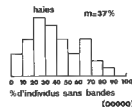
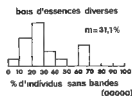
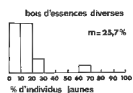
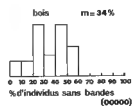
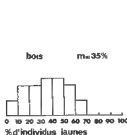
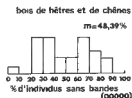
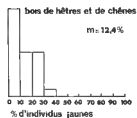
Tableau III : Fréquences moyennes de la forme sans bandes (00000) chez *Cepaea nemoralis* en fonction de la température moyenne du mois de janvier (d'après Lamotte 1966)

Température moyenne de janvier	<0°	0-2°	2-4°	>4°
Fréquence moyenne des 00000 (%)	30	29	24	24



D'autres exemples ont été apportés par Guerrucci (1966), qui a mis en évidence une corrélation significative entre l'importance du caractère jaune dans les populations bretonnes de *Cepaea nemoralis* (Fig. 1) et la pluviosité, ainsi que par Arnold (1968).

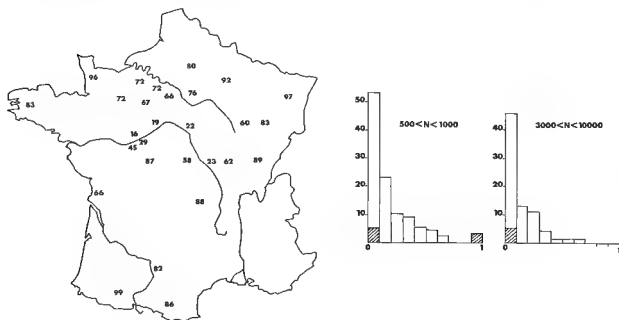
Ces études ont également permis de voir qu'à l'intérieur d'un secteur géographique restreint certains gènes sont caractéristiques d'un biotope donné. Ainsi les auteurs anglais ont montré que les populations des milieux herbacés sont plus riches en variétés jaunes et avec bandes, tandis que les formes roses et brunes dépourvues de bandes prédominent dans les milieux boisés (Fig. 2).



En France, Lamotte (1959) et Guerrucci ont observé, chez *Cepaea nemoralis* et *Cepaea hortensis* respectivement, que la fréquence des gènes de coloration présente des variations d'un type de biotope à l'autre, tandis que la forme sans bandes paraît être indépendante d'un biotope donné (Fig. 3).

L'action sélective par les prédateurs permet parfois d'expliquer des corrélations observées entre la composition de la population et le milieu (Sheppard, 1951), mais elle ne paraît pas toujours réellement efficace (Lamotte, 1950-1959) ; il semble en revanche que des éléments du microclimat déterminés par chacun des biotopes (ensoleillement, froid, humidité) puissent, par l'intermédiaire d'une sélection physiologique différentielle, être à l'origine d'une large part des variations observées. Cette hypothèse est étayée par des expériences menées par plusieurs auteurs (Schnetter, 1950 ; Boettger, 1954 ; Seldmair, 1956 ; Lamotte, 1966 ; García, 1972) qui tendent à montrer la plus grande résistance des individus jaunes à l'ensoleillement et à la sécheresse, tant chez *Cepaea nemoralis* que chez *Cepaea hortensis*. Ces résultats corroborent également les corrélations observées à l'échelle des zones climatiques.

Les variations des fréquences de certains caractères (Péristome coloré, système 10305) chez *Cepaea hortensis* tant à l'intérieur d'une région que d'une région à l'autre, ne peuvent pas toujours être interprétées comme le résultat d'une action sélective des facteurs climatiques ou microclimatiques. Ainsi, la fréquence moyenne du caractère péristome coloré est la même dans des régions qui présentent des caractéristiques climatiques aussi diverses que le Nord, l'Est et le Sud de la France (Fig. 4). Les variations graduelles de ce caractère laissent supposer en revanche l'importance des migrations (Guerrucci, sous presse).



Il existe des différences de fréquence génique parfois importantes entre des populations isolées qui occupent à l'intérieur d'un même ensemble régional des milieux en apparence identiques. Lamotte (1951-1954) a émis l'hypothèse qu'une grande part de cette diversité peut-être attribuée à l'action de phénomènes de nature fortuite liés en grande partie à l'effectif limité des populations. La comparaison de la diversité des fréquences du caractère sans bandes parmi les populations de *Cepaea nemoralis* de faible effectif et parmi celles de fort effectif montre en effet que la dispersion des fréquences du caractère sans bandes dans les populations diminue lorsque l'effectif s'accroît (Fig. 5).

Les facteurs sélectifs et fortuits qui permettent d'expliquer les variations de la composition génique des populations conduisent normalement à l'homozygotie en chacun des loci, en l'absence d'un avantage sélectif de l'hétérozygote. Le maintien, dans pratiquement toutes les colonies observées, d'un polymorphisme de la coquille suppose donc un mécanisme plus complexe. Un ajustement

à des histogrammes expérimentaux de courbes théoriques de distribution du gène déterminant le phénotype sans bandes a montré que, s'il existe chez *Cepaea nemoralis* un léger hétérosis (Lamotte, 1954, Coursol, 1971), l'avantage sélectif de l'hétérozygote, ainsi que les taux de mutation et de migration estimés, semblent toutefois trop faibles pour expliquer à eux seuls le maintien du polymorphisme au locus du gène étudié.

Des études statistiques ont montré d'autre part la présence à l'intérieur des populations des deux espèces d'associations entre les caractères déterminés par des gènes liés ou non, qui ne peuvent pas être attribués au hasard. L'existence de ces associations suggère la possibilité de relations épistatiques entre les gènes qui peuvent conduire à la stabilité du polymorphisme. En effet, comme la valeur sélective de l'un des gènes dépend alors des autres gènes, le polymorphisme peut être maintenu à chacun des locus par un jeu d'interactions multiples.

Ces relations épistatiques peuvent conduire à la constitution de supergènes composés de gènes coadaptés à un milieu donné qui, dans la mesure où ils sont stabilisés, vont aboutir à la formation de races locales et être ainsi à l'origine d'une microévolution.

\* \* \*

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARNOLD R.W., 1968. - Climatic selection in *Cepaea nemoralis* L. in the Pyrénées. *Philos. Trans. r. Soc. London, B*, (253) : 549-593.
- BOETTGER C.R., 1954. - Zur Frage des Verteilung bestimmter Varianten bei der Landschnecken-gattung *Cepaea*. *Held. Biol. Zool.* (73) : 318-338.
- CAIN A.J. et SHEPPARD P.M., 1950. - Selection in the polymorphic landsnail *Cepaea nemoralis*. *Heredity, G.-B.*, (4) : 275-294.
- CAIN A.J. et SHEPPARD P.M., 1954. - Natural selection in *Cepaea*. *Genetics*, (39) : 89-116.
- CAIN A.J., KING J. et SHEPPARD P., 1960. - New data on the genetics of polymorphism in the snail *Cepaea nemoralis* L. *Genetics, U.S.A.* (45) : 393-411.
- CAIN A.J., KING J. et SHEPPARD P.M., 1968. - The genetics of some morphs and varieties of *Cepaea nemoralis* L. *Philos. Trans. r. Soc. London B*, (253) : 383-396.
- COOK L.M., 1967. - The genetics of *Cepaea nemoralis* L. *Heredity, G.-B.* (22) : 397-417.
- COOK L.M. et MURRAY J.J., 1966. - New information on the inheritance of polymorphic characters in *Cepaea hortensis*. *J. Hered., U.S.A.*, (57) : 45-247.
- COURSOL J., 1971. - Recherches sur la distribution des fréquences d'un gène dans une population d'effectif limité. Applications à l'étude de populations de *Cepaea nemoralis*. (Thèse de 3e cycle Paris).
- GARCIA M.C., 1972. - Recherches sur l'échauffement de l'escargot *Cepaea nemoralis* L. par l'énergie rayonnée. (Thèse de 3e cycle. Paris).
- GOODHART C.B., 1956. - Genetic stability in populations of the polymorphic snail *Cepaea nemoralis* L. *Proc. linn. Soc. London*, (167) : 51-67.
- GUERRUCCI M.A., 1966. - Recherches sur les populations naturelles de *Cepaea nemoralis* en Bretagne. *Arch. Zool. expér. gén. Fr.*, (107) : 369-417.
- GUERRUCCI M.A., 1971. - Etude de la transmission de quelques caractères de la pigmentation chez *Cepaea hortensis*. *Arch. Zool. expér. gén. Fr.*, (112) : 211-219.

- GUERRUCCI M.A., 1972. - Aspects généraux du polymorphisme de la couleur du péristome chez *Cepaea hortensis* en France. *Malacologia*, (sous presse).
- GUERRUCCI M.A., - Etude de la transmission du caractère péristome coloré chez *Cepaea hortensis*. *Arch. Zool. expér. gén. Fr.* (sous presse).
- LAMOTTE M., 1950. - Observations sur la sélection par les prédateurs chez *Cepaea nemoralis*. *J. Chonchyl. Fr.*, (90) : 180-190.
- LAMOTTE M., 1951. - Recherches sur la structure génétique des populations naturelles de *Cepaea nemoralis* L. *Bull. Biol. Fr. Suppl.* 35 : 1-239.
- LAMOTTE M., 1953. - Le rôle des fluctuations fortuites sur la diversité des populations naturelles de *Cepaea nemoralis* L. *Heredity*, (6) : 333-343.
- LAMOTTE M., 1954. - Distribution en France des divers systèmes de bandes chez *Cepaea nemoralis* L. *J. Chonchyl. Fr.* (94) : 125-147.
- LAMOTTE M., 1959. - Polymorphism of natural populations of *Cepaea nemoralis*. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. U.S.A.* (24) : 65-84.
- LAMOTTE M., 1966. - Les facteurs de la diversité du polymorphisme dans les populations naturelles de *Cepaea nemoralis* L. *Lavoro della Società Malacologia Italiana*, (3) : 33-73.
- LAMOTTE M., et GUERRUCCI M.A., 1970. - Traits généraux du polymorphisme du système de bandes chez *Cepaea hortensis* en France. *Arch. Zool. expér. gén. Fr.*, (112) : 211-219.
- SCHNETTER M., 1950. - Veränderungen der genetischen Konstitution in natürlichen Population der polymorphen Bänderschnecken. *Verh. deutsch. Zool. Marburg*, 192-206.
- SELDMAIR H., 1956. - Verhaltens-, Resistenz-, und Gehäuseunterschieden bei den polymorphen Bänderschnecken *Cepaea hortensis* Müll. und *Cepaea nemoralis* L. *Biol. Zbl. Dtsch.* (75) : 81-313.
- SHEPPARD P.M., 1951. - Fluctuations in the selective value of certain phenotype in the polymorphic land snail *Cepaea nemoralis* L. *Heredity*, G. - B., (5) : 125-134.
- WOLDA H., 1963. - Natural populations of the polymorphic land snail *Cepaea nemoralis* L. *Arch. néerl. Zool.* (15) : 381-471.

#### LEGENDE DES FIGURES

- Fig. 1 Variations de la fréquence des individus jaunes dans les populations bretonnes de *Cepaea nemoralis* en fonction de la hauteur des pluies en millimètres.
- Fig. 2. Distribution des fréquences des formes jaune et sans bandes dans les populations de *Cepaea nemoralis* provenant de différents biotopes en Grande-Bretagne (d'après Cain et Sheppard 1950). La hauteur de chaque petit rectangle équivaut à 1 colonie.
- Fig. 3 : Distribution des fréquences des formes jaune et sans bandes dans les populations de *Cepaea nemoralis* provenant de différents biotopes en Aquitaine (d'après Lamotte 1966).
- Fig. 4 - Fréquences régionales moyennes (en %) du caractère péristome blanc chez *Cepaea hortensis*.
- Fig. 5 : Distribution des fréquences du caractère sans bandes dans les colonies de *Cepaea nemoralis* de faible effectif (à gauche) et dans les colonies d'effectif élevé (à droite), (d'après Lamotte 1951).

## CULTURE IN VITRO DE CELLULES DE GASTEROPODES

par J.M. QUIOT et C. YAGO avec la collaboration technique de J. LUCIANI (1)

### RESUME

L'étude de la génétique cellulaire, des mécanismes immunologiques de la pathogénèse virale et rickettsienne a nécessité la mise au point de cultures "in vitro" de tissus et de milieux nécessaires à ces cultures. On expose ici principalement l'histoire des travaux sur ce sujet concernant les tissus des mollusques. Les auteurs nous rappellent l'établissement en 1958 d'une des premières lignées cellulaires obtenues chez les Invertébrés à partir des cellules du pied d'*Helix aspersa*. Les organes les plus communément mis en culture sont le pied, le manteau et le cœur. La technique de la dissociation enzymatique par la trypsine permet de cultiver des cellules débarrassées du mucus.

Les cultures les plus dynamiques ont été obtenues à partir du tissu cardiaque qui donne lieu après 4, 5 jours de culture à une migration de cellules de types fibroblastique. De telles cultures peuvent tenir plus de trois mois.

### SUMMARY

The study of the cellular genetic, the immunological mechanisms, the viral pathogenesis, needs researches about the culture of living tissue "in vitro" and about the media which are necessary for these cultures. The work firstly consists in an historic of publications about this subject, applied to molluscs. The authors remind the establishment in 1958 of the first cells offsprings, from foot cells of *Helix aspersa*. The most used organs are the foot, the mantle and the heart. The technic of the enzymatic dissociation by trypsin permits cultures of cells after the mucus of which was taken off.

The most dynamic cultures were got from cardiac tissue ; after 4 - 5 days in culture we can see a migration of fibroblastic cells. Such cultures can live three months at the least.

\* \* \* \*

Les possibilités d'approfondissement de nombreux problèmes physiologiques, pathologiques, cytologiques et parasitologiques ont été considérablement ouvertes au cours des dernières trentaines d'années dans tous les secteurs de la recherche biologique grâce à la mise au point de cultures *in vitro* de cellules de différents organes. Une grande partie des acquisitions importantes concernant les fonctions, les constituants cellulaires, la génétique cellulaire et la pathogénèse virale, rickettsienne, l'action intime des toxines et différents mécanismes immunologiques a été obtenue sur de telles cultures.

(1) Station de Recherches Cytopathologiques, INRA-CNRS, 30380 - Saint-Christol.

De nombreux problèmes de ces types étant liés aux invertébrés, depuis une quinzaine d'années des recherches actives ont visé l'obtention des cultures cellulaires et des souches cellulaires chez les arthropodes, les mollusques et d'autres invertébrés. La mise au point de telles cultures a rencontré des difficultés bien plus importantes que la culture de cellules de Vertébrés du fait de la grande variété des structures et des compositions chimiques des invertébrés qui représentent des groupes et des types très hétérogènes et situés à des degrés phylogénétiques variés.

Il en était de même en ce qui concerne les mollusques chez lesquels de nombreuses questions physiologiques, endocrinologiques et embryologiques sont étudiées depuis longtemps et auxquels sont également liés des problèmes importants de pathologie comparée et d'épidémiologie, en particulier ceux de la transmission de germes pathogènes et des parasites.

## EVOLUTION DES CULTURES CELLULAIRES DE MOLLUSQUES

Vu les multiples intérêts attachés à l'étude cytologique des Mollusques il paraît normal que de nombreuses tentatives aient lieu depuis assez longtemps pour l'observation de leurs cellules hors de l'organisme. Ainsi GATENBY (1931), GATENBY et DUTHIE (1932), BOHUSLAV (1933 a et b), GATENBY et HILL (1934), HAUGTON (1934), HILL (1934), HILL et GATENBY (1934) et GATENBY et col. (1935) notent une migration cellulaire à partir d'explants provenant du cœur, de manteau, des poumons et du receptacle séminal des Mollusques Gastéropodes *Helix* sp. sans toutefois obtenir une multiplication des cellules. Plus tard, BEVELANDER et MARTIN (1949) maintiennent des fragments de manteau d'*Helix* pendant plusieurs semaines et observent quelques migrations cellulaires.

Cependant, ce sont les travaux de VAGO et CHASTANG sur la culture de cellules du pied d'*Helix aspersa* qui aboutissent en 1958 à l'obtention d'une multiplication cellulaire active et à l'établissement de la première lignée cellulaire de Mollusques qui se trouve être également l'une des premières lignées cellulaires chez les Invertébrés. Plus tard, CHERNIN et SCHORK (1959) et CHERNIN (1959 et 1963) obtiennent une migration d'amœbocytes et de cellules épithéliales à partir du cœur d'*Australorbis glabratus* sans observer de mitoses.

En suivant un principe de culture différent, FLANDRE et VAGO (1963) réussissent la culture du cœur, de manteau et de pied d'*Helix aspersa* également en coagulum plasmatique.

A titre de comparaison avec les cultures cellulaires de Gastéropodes mentionnons celles obtenues chez les Mollusques Lamellibranches.

Les premiers résultats dans ce domaine proviennent des travaux de VAGO et CHASTANG (1960) qui réalisèrent la culture de cellules du muscle pédieux, des branchies, de la membrane péricardique et du cœur des huîtres : *Ostrea edulis* et *Gryphaea angulata*. Une culture cellulaire provenant de la Moule : *Mytilus galloprovincialis* a été signalée en 1963 par CHARDONNET et PERES et plus récemment celle du tissu cardiaque de *Spisula solidissima* par CECIL (1969).

## MISE AU POINT DE LA CULTURE D'HELIX ASPERSA ET D'AUSTRALORBIS GLABRATUS

Les travaux actuellement poursuivis dans nos laboratoires de Saint-Christol et de Montpellier visent le perfectionnement des cultures cellulaires de ces Mollusques gastéropodes en particulier d'*Australorbis glabratus* tenu compte de son importance en parasitologie et en épidémiologie.

### A) ELABORATION DES MILIEUX

Une partie essentielle de ces recherches a concerné la mise au point de milieux les plus adaptés aux tissus de ces espèces et assurant la prolifération importante des cellules. Ces études ont été basées sur le principe de standardisation des milieux de culture d'Invertébrés en fractions, proposé par VAGO et QUIOT (1969) et sont répertoriés dans le tableau ci-contre :

### B) TISSUS CULTIVES

Nous utilisons le cœur, le manteau et le pied. Des essais de cultures de cellule sanguines ont également été faits. Chez *Helix* et *Australorbis* le prélèvement du cœur se fait par une ouverture pratiquée dans la coquille préalablement désinfectée. Cette ouverture doit se situer à un point précis sur la partie droite de la coquille vue de face.



SUBSTANCES	QUANTITE POUR 100 ml DE MILIEU COMPLET		
	<i>Helix aspersa</i>	<i>Australorbis glabratus</i>	Huîtres (pour comparaison)
<b>FRACTION A :</b> Solution organique du milieu T.C. 199 concentrée 5 fois	20 ml	20 ml	40 ml
<b>FRACTION B :</b> Antibiotiques			
Penicilline G .	10 mg	10 mg	15 mg
Dihydrostreptomycine	10 mg	10 mg	15 mg
<b>FRACTION C :</b> Serums			
Serum de veau foetal	----	10 ml	10 ml
Serum de poulet	----	----	5 ml
Serum homologue	10 ml	----	----
<b>FRACTION D :</b> Solution minérale de base			
Eau de mer	----	----	100 ml
Na2HP04 7 H2O	5,3 mg	9 mg	----
NaCl	210 mg	800 mg	----
KCl	34 mg	40 mg	----
KH2P04	----	6 mg	----
CaCl2	77 mg	14 mg	----
MgSO4 7 H2O	----	20 mg	----
MgCl2 6 H2O	41 mg	----	----
<b>FRACTION E :</b>			
Hydrolysate de lactalbumine	700 mg	----	500 mg
Glucose	150 mg	150 mg	100 mg
Rouge de phénol	2 mg	2 mg	2 mg
t	0,35° C	0,55° C	1,90° C
pH	6,8	6,8	6,8

#### C) METHODES DE CULTURES

Les cultures ont été établies selon deux principes :

##### - Explants

Les organes ou les tissus découpés en fragments d'environ 0,5 à 1 mm sont mis en suspension dans du milieu de culture et introduits dans les récipients de culture. A la mise en culture et pendant les 3 ou 4 premiers jours de la culture, la quantité de milieu doit être très réduite pour favoriser l'adhésion des explants. Ce laps de temps passé on ajoute du milieu en quantité suffisante pour recouvrir les explants fixés.

##### - Dissociation enzymatique

La séparation enzymatique des cellules a été obtenue surtout par l'emploi de la trypsine à 0,25 % dans une solution de HANKS à l'exclusion des ions bivalents Ca ++ et Mg ++ à pH 7,2. Les tissus ou organes découpés en petits fragments sont mis en suspension dans la solution de trypsine à la température du laboratoire et agités soit par pipettages successifs soit à l'aide de barreaux aimantés. 15 à 20 minutes de contact suffisent pour obtenir une bonne dissociation des tissus cardiaques, pour le manteau ce temps est réduit à 10 ou 15 minutes. Les cellules isolées et les restes d'explants incomplètement dissociés sont centrifugés à 1000 t/m pendant 10 minutes et le culot lavé par une nouvelle centrifugation. Le deuxième culot repris dans le milieu est mis en culture.

##### - Affaiblissement enzymatique de la cohésion tissulaire

Le procédé précédemment décrit n'est poursuivi que pendant 5 à 10 minutes. Mais aucune centrifugation n'intervient car ce sont les explants et non les cellules détachées qui sont conservées.

Ces méthodes de dissociation à la trypsine présentent l'avantage particulièrement important pour le cas des Gastéropodes d'éliminer le mucus qui engue la plupart des tissus des mollusques et gêne l'évolution des cultures. Il est probable qu'au contact de l'oxygène de l'air ce mucus peut s'oxyder et devenir toxique pour les cellules en culture.

Les cultures sont incubées de 22 à 24° C.

#### D) CULTURES CELLULAIRES OBTENUES

Les cultures les plus dynamiques et les plus stables ont été obtenues à partir du tissu cardiaque. Qu'il s'agisse d'*H. perspersa* ou de *A. globrotus*, les explants fixés sur le substratum donnent après 4 ou 5 jours de culture lieu à la migration de nombreuses cellules de type fibroblastique. Ces cellules ont un cytoplasme transparent fortement étalé et fixé sur le fond des récipients. Les noyaux sont nettement délimités et renferment 3 ou 4 nucléoles. Certaines cellules présentent de fines granulations périnucléaires. Après 8 à 10 jours, les cellules, devenues très nombreuses forment un halo serré autour des explants. Seuls les noyaux sont alors visibles et il est difficile de distinguer les limites cellulaires (Fig. 1). On observe autour de ces halos cellulaires de nombreux longs pseudopodes émis par les cellules de la périphérie et on note des mitoses (Fig. 3).

De telles cultures se développent pendant plus de 3 mois. Toutefois, les cellules semblent avoir quelques difficultés de se libérer de l'influence de l'explant et de ce fait la couche cellulaire est irrégulière et présente des points de nécrose.

L'utilisation des principes de la dissociation enzymatique et de l'affaiblissement enzymatique de cohésion tissulaire assurent un tapis cellulaire plus homogène. La possibilité de repiquages répétés a été signalée dès nos premiers travaux.

On doit noter la formation de vésicules creuses à partir de blessures de certains explants (Fig. 2). Ces vésicules semblent constituées de cellules épithéliales entremêlées de cellules filiformes.

D'une manière générale, les cellules d'*Australorbis* sont plus petites que celles d'*Helix* et émettent des pseudopodes plus courts et plus effilés. Les noyaux sont moins visibles et l'aspect du tapis cellulaire est plus lâche (Fig. 4 et 5).

Le manteau donne naissance à des tapis cellulaires étendus. Les cellules sont de type fibroblaste. Toutefois, ces cultures cellulaires sont plus difficiles à réaliser que celles du tissu cardiaque car il s'agit de tissus naturellement septiques mal aisés d'aseptiser. L'une des souillures gênantes est les protozoaires abondants au niveau de cet organe.

#### CONCLUSIONS

En évaluant les résultats anciens et récents ci-avant résumés nous pouvons constater que les cultures cellulaires de Gastéropodes, si elles n'ont pas atteint le degré de développement des cultures concernant certaines espèces d'insectes, fournissent dès à présent des systèmes cellulaires de qualité et de durée suffisantes pour constituer le support de diverses études "in vitro" en physiologie, en pathologie et en parasitologie. En particulier, elles nous ont permis d'étudier la pathogénèse de plusieurs virus, rickettsies et helminthes pathogènes aux Mollusques ou transmis par eux. Ces derniers problèmes étant de grande actualité nos recherches visent d'une part le perfectionnement des cultures obtenues d'autre part l'extension des mises au point sur d'autres Gastéropodes importants en parasitologie et en épidémiologie.

\* \* \* \*

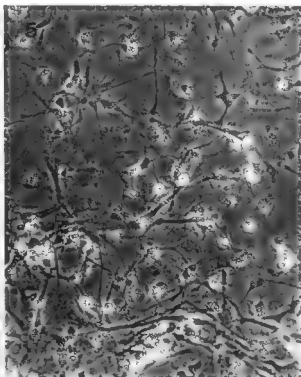
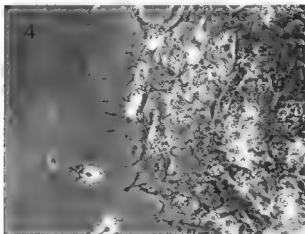
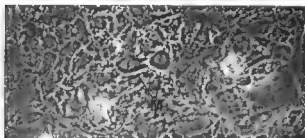
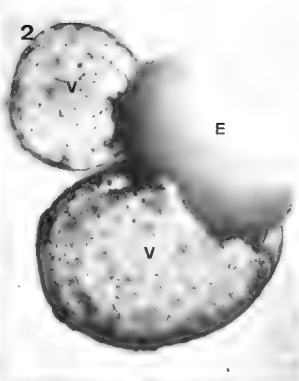
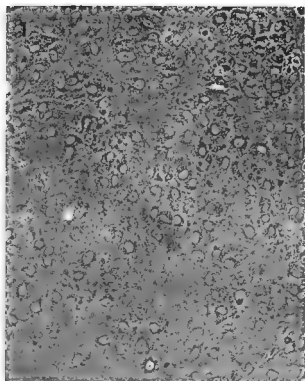
#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BEVELANDER, G. et MARTIN, J. 1949. - Culture of mantle tissue of marine molluscs. *Anat. Rec.*, 105, 614.
- BOHUSLAV, P. 1933 a. - Die gewebezüchtung des postembryonalen Verdaustraktus, der Glandula salivaris und des Receptaculum seminis bei Mollusken aus der Familie Helicidae. *Arch. Exper. Zellforsch.*, 13, 673-707.
- BOHUSLAV, P. 1933 b. - Die explantation der reinem postembryonalen Kerzbindegewebes aus *Helix pomatia*. *Arch. Exper. Zellforsch.*, 14, 139-151.
- CECIL, J. T. 1969. - Mitoses in cell cultures from cardiac tissue of the surf clam *Spisula solidissima*. *J. Invert. Pathol.*, 14, n° 3, 407-10.

- CHARDONNET, Y. et PERES, G. 1963. - Essai de cultures provenant d'un Mollusque : *Mytilus galloprovincialis* L. C.R. Soc. Biol., 157, 1593-1595.
- CHERNIN, E. 1959. - Cultivation of the snail *Australorbis glabratus* under axenic conditions. Animals of New-York Acad. Sci., 77, 237-245.
- CHERNIN, E. 1963. - Observations on hearts explanted "in vitro" from the snail *Australorbis glabratus*. J. Parasitol., 49, 353.
- CHERNIN, E. and SCHORK, A.R. 1959. - Growth in axenic culture of the snail *Australorbis glabratus*. Amer. J. Hyg., 69, 146.
- FLANDRE, O. et VAGO, C. 1963. - Culture de tissus de gastéropodes en coagulum plasmatique. C.R. 1er Coll. Int. Cult. Tissus d'Invert. Montpellier. 1962. Ann. Epiphyties, 14, n° 3, 161-171.
- GATENBY, J. B. 1931. - Out growths from pieces of *Helix aspersa*, the common snail. Nature, 12, 1002-1003.
- GATENBY, J. B. and DUTHIE, E. S. 1932. - On the behaviour of small pieces of the pulmonary cavity wall of *Helix aspersa* kept in blood. J. Roy. Microsc. Soc. 52, 395.
- GATENBY, J. B. and HILL, J. C. 1934. - Improved technique for non aseptic tissue culture of *Helix aspersa* with notes on mollusc cytology. Quart. J. Micr. Sci., 76, 339-356.
- GATENBY, J. B., HILL, J. C. and MAC DOUGALD, T. J. 1935. - On the behaviour and structure of cells of *Helix aspersa* in aseptic and non aseptic tissue culture. Quart. J. Micr. Sci., 77, 129-155.
- HAUGHTON, I. 1934. - Note on the amoeboid elements in the blood of *Helix aspersa* Quart. J. Microsc. Sci., 77, 157-166.
- HILL, J. C. 1934. - Notes on "in vitro" culture of pulmonate molluscs J. Roy. Microsc. Sci., 54, 163-176.
- HILL, J. C. and GATENBY, J. C. 1934. - On the behaviour of small pieces of mantle cavity wall of *Helix aspersa* kept in blood and various artificial media. Arch. Exp. Zellforsch., 15, 195.
- VAGO, C. et CHASTANG, S. 1958. - Obtention de lignées cellulaires en culture de tissus d'Invertébrés. Experientia, 14, 110-113.
- VAGO, C. et CHASTANG, S. 1960. - Culture de tissus d'huîtres. C.R. Acad. Sci., 250, 2751-2753.
- VAGO, C. et QUIOT, J. M. 1969. - Recherches sur la composition des milieux pour cultures de cellules d'Invertébrés. Ann. Zool. Ecol. Anim., 1, (3), 281-288.

#### LEGENDE DES FIGURES

- Fig. 1 : Culture de cellules cardiaques (ventricules) d'*Helix aspersa* âgée de 3 mois. Contraste de phase X 175.
- Fig. 2 : Vésicules autour d'un explant. V : vésicules, E : explants. X 45.
- Fig. 3 : Culture de cellules cardiaques (ventricules) d'*Helix aspersa* âgée de 3 mois. M. mitoses en métaphase. Contraste de phase X 175.
- Fig. 4 : Culture de cellules cardiaques d'*Australorbis glabratus* âgée de 5 jours. Début de l'émigration cellulaire. Contraste de phase X 175.
- Fig. 5 : Culture de cellules cardiaques d'*Australorbis glabratus* âgée d'un mois. Contraste de phase X 175.



## REACTIVITE DES ANTI-A D'HELIX POMATIA ET D'HELIX ASPERSA VIS-A-VIS DE PHENOTYPES A ERYTHROCYTAIRES

par Alain GERBAL (1), Geneviève LIBERGE, Claude MASLET et Charles SALMON (2)

### RESUME

Les extraits provenant de la glande albumine de certaines espèces d'escargots possèdent une activité anticorpale spécifique d'un antigène de groupe sanguin, appelée protectine par Uhlenbruck. En particulier, une réactivité spécifique de l'antigène A est trouvée pour les anti-A d'*Helix pomatia*, anti-A d'*Helix aspersa*, qui reconnaissent l'antigène A. Des études d'absorption sur des hématies normales ou traitées par les enzymes, telle la neuraminidase, ainsi que d'inhibition de l'agglutination par les sucres, ont montré que cette activité anticorpale était anti- $\alpha$ ,  $\beta$  N-acetyl-D-galactosamine.

Ces réactifs permettent en outre de différencier certaines variétés d'antigènes A faibles, tels les phénotypes  $A_3$  et  $A_x$ ,  $A_m$  et  $A_{e1}$  et également, semble-t-il - mais ce résultat demande à être confirmé sur d'autres échantillons - les cis-AB et les AB classiques.

Enfin, des essais d'utilisation de ces réactifs pour le groupage systématique des donneurs se sont soldés par un échec à cause de leur très faible réactivité avec certains échantillons  $A_2B$  qui, de ce fait, pourraient être considérés comme des B.

### SUMMARY

Extracts from the albumin gland of some varieties of snails were found to have an activity specific for a blood-group antigen, which Uhlenbruck named "protectin". In particular, a reactivity specific for the A antigen is found in anti-A from *Helix pomatia*, anti-A from *Helix aspersa*, which recognize the A antigen. Studies carried out by absorption on normal red cells, or red cells treated with enzymes (for instance neuraminidase), as well as agglutination inhibition by sugars, showed that this antibody activity was anti- $\alpha$ ,  $\beta$  N-acetyl-D-galactosamine.

These reagents allow one to differentiate between certain weak A antigen variants, such as the  $A_3$  and  $A_x$ , the  $A_m$  and  $A_{e1}$  phenotypes and (or so it seems) between cis-AB and conventional AB, though the latter must be substantiated by further sample testing.

Lastly, trial use of such reagents in routine typing of blood donors was ultimately a failure because of their very weak reactivity with some  $A_2B$  samples which therefore may be considered as being B.

\* \* \* \*

(1) Docteur en médecine, Assistant du Service d'Immuno-hématologie. Centre Départemental de Transfusion Sanguine, 53 Bd Diderot, Paris 12e.

(2) Directeur du Groupe de Recherches U 76 de l'INSERM.

## INTRODUCTION

L'intérêt de la recherche des réactivités anticorpsales de groupe sanguin chez les plantes ou les animaux a été dicté d'abord par le souci de découvrir des réactifs permettant d'effectuer des groupages dans le système ABO. Il était en effet important de pouvoir disposer surtout de réactifs anti-A du fait de la rareté de celui-ci, étant donné la faible fréquence des sujets B par rapport aux sujets O et A. Les premiers travaux de recherche ont été faits sur des plantes et ainsi furent découvertes, en particulier, les lectines anti-A<sub>1</sub> de *Dolichos biflorus* (extrait de haricot) et l'anti-H d'*Ulex europaeus*. Ces deux lectines étaient très intéressantes en ce sens qu'elles permettaient de différencier les hématies de phénotype A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub> ou celles de phénotypes A<sub>1</sub>B et A<sub>2</sub>B (les hématies de phénotype A<sub>1</sub> ou A<sub>1</sub>B réagissant avec l'anticorps anti-A<sub>1</sub> et non avec l'anti-H et, inversement, celles A<sub>2</sub> et A<sub>2</sub>B réagissant avec l'anti-H et non avec l'anti-A<sub>1</sub>).

Tableau 1 - Réactifs spécifiques d'antigènes de groupes sanguins A, B, H

Sérums humains	Anti A	(de sujets B)
	Anti B	(de sujets A)
	Anti H	(de sujets A, B, ou Bombay)
Lectines	Anti A <sub>1</sub>	<i>Dolichos Biflorus</i>
	Anti B	<i>Fomes Formentarius</i>
	Anti H	<i>Ulex Europaeus</i>
Protectines	Anti A	<div> <div>Helix Pomatia</div> <div>Helix Aspersa</div> <div>Cepaea Nemoralis</div> </div>
	Anti A <sub>1</sub>	<div> <div>Euphrada Periomphala</div> <div>Bradybaena Fructicum</div> </div>
	Anti B	Salmo Indeus
	Anti H	Eel

Comme le montre le tableau 1, nous disposons pour différencier les antigènes A, B et H, de réactifs de provenances diverses. Certains sont d'utilisation courante, tels les sérums humains anti-A (de sujets B), anti-B (de sujets A) et anti-H (essentiellement de sujets A<sub>1</sub>B et, beaucoup plus rarement, de sujets Bombay), et les lectines anti-A<sub>1</sub> et anti-H qui différencient, comme nous venons de le dire, les phénotypes A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub>.

D'autres au contraire sont réservés à l'analyse précise de certains phénotypes plus rares, du fait soit de leur plus faible réactivité, soit que ces réactifs sont difficiles à obtenir, mais surtout ils peuvent permettre une analyse plus précise de la structure biochimique de certains antigènes. Il en est ainsi de la lectine anti-B extraite d'un champignon, *Fomes fomentarium* : Comme l'ont montré Khalap et coll. (1970) il est paradoxal de noter que la N-acetyl-D-galactosamine (sucre immunodominant du A) inhibe mieux la réactivité de cette lectine vis-à-vis des hématies B que le D-galactose (sucre immunodominant du B) ; des protectines anti-A<sub>1</sub> : EP - *Euphrada periomphala* (anti-A<sub>1</sub>EP) et BF = *Bradybaena fructicum* (anti-A<sub>1</sub>BF) qui sont également d'utilisation peu fréquente du fait de leur faible réactivité mais qui, vraisemblablement, auront un intérêt très important pour approcher la nature biochimique de l'antigène A<sub>1</sub> par rapport à l'antigène A au niveau des érythrocytes. Il en est de même de l'anti-B extrait des œufs de saumon (anti-B<sub>SP</sub>) ; quant à l'anti-H d'anguille, il constitue un réactif de recherche intéressant car il se différencie de la lectine anti-H par le fait qu'il réagit vis-à-vis d'un antigène composé, H<sub>I</sub>, sous la dépendance non seulement du système Hh, mais d'un autre système de groupes sanguins appelé I-i.

Dans cet exposé nous nous en tiendrons aux "protectines" qui sont des réactifs particulièrement intéressants pour l'immuno-hématologiste. Ce nom de "protectines" fut donné par Uhlenbruck à des extraits d'escargot comportant une réactivité de groupe sanguin. Cette réactivité peut être obtenue soit à partir de la glande albumine de l'animal, soit à partir des œufs, soit même avec un

broyé de l'animal mais, dans les deux derniers cas, les réactifs sont moins puissants. Uhlenbruck pense que ces substances, qui sont d'ailleurs spécifiques d'antigènes de groupes sanguins, ont un rôle vraisemblablement important dans l'appareil sexuel des animaux. Plusieurs types de protectines ont été découverts depuis environ une dizaine d'années. C'est en 1965 que les premières protectines furent décrites par Prokop et coll. (1965) et également par Boyd et coll. (1965) qui vont découvrir, les premiers dans *Helix pomatia* et *Cepaea hortensis*, un anticorps de spécificité anti-A, et les autres une même réactivité chez *Otala lactea*. Fait intéressant, Uhlenbruck et Prokop ont montré qu'*Helix pomatia* possédait un système de groupes sanguins défini comme celui de LANDSTEINER, c'est-à-dire que chez cet animal il existait un antigène B et un anticorps anti-A de la même façon que les sujets de groupe B possèdent dans leur sérum un anticorps anti-A.

Depuis les découvertes simultanées de Prokop et de Boyd et coll., de nombreuses espèces d'escargots ont été étudiées quant à leur réactivité vis-à-vis des antigènes des systèmes ABO et Hh.

Jusqu'alors 57 espèces ont été testées vis-à-vis des érythrocytes A, B et O. Ces espèces se différencient en 4 groupes : 22 ont une spécificité anti-A, 3 une spécificité anti-B, 12 réagissent vis-à-vis des érythrocytes quel que soit leur phénotype ABO - et dans ce cas il n'y a pas de relation avec les antigènes A, B et O ni d'ailleurs avec aucun autre système de groupes sanguins - enfin 20 autres espèces n'ont aucune activité vis-à-vis des antigènes A, B ou O.

L'activité anticorpale de ces mollusques a été trouvée maxima dans la glande albumine et c'est ainsi que la majorité des auteurs, à l'heure actuelle, extraient ce réactif à partir de cette glande albumine. Cependant, il est possible d'avoir également un extrait à partir soit des œufs soit même d'un broyat de l'animal. Mais dans ce dernier cas la réactivité est beaucoup plus faible.

## MATERIEL ET METHODES

Les échantillons testés comprennent d'une part des globules rouges ayant des phénotypes fréquents, tels les  $A_1$ ,  $A_2$  et également  $A_1B$  et  $A_2B$  et, d'autre part, des phénotypes beaucoup plus rares tels les antigènes A faibles, dont les fréquences sont inférieures à 1/40 000. Ils se différencient en deux groupes : ceux qui présentent une faible réactivité, dans les réactions d'agglutination, avec les réactifs anti-A de sujets B et O, tels les  $A_3$ ,  $A_x$  et  $A_{end}$  et ceux où les réactions d'agglutination sont négatives mais où il est possible de montrer qu'il existe un antigène A à la surface des érythrocytes, du fait de réactions de fixation-éluion positives avec des anticorps anti-A : ainsi sont définis les  $A_m$  et  $A_{el}$ .

Enfin, nous avons également testé ces deux types de réactifs vis-à-vis d'échantillons encore plus rares appelés cis-AB : il s'agit ici de sujets qui possèdent à la fois l'antigène A et un antigène B particulier et qui ont dans leur sérum un anticorps anti-B ; mais - et ce point est essentiel - ces antigènes A et B sont produits par un même gène et non pas, comme les sujets AB, par deux gènes, A et B, ce qui est démontré par les études génétiques familiales. Du fait de la fréquence très faible de ces divers phénotypes nous n'avons pu tester que peu d'échantillons : 4  $A_3$ , 5  $A_x$ , 4  $A_{end}$ , 1  $A_m$ , 2  $A_{m2}$ , 2  $A_{el}$  et 2 cis-AB.

- Les hématies à tester sont, d'une part en suspension saline à 2 % et, d'autre part, traitées par soit des enzymes protéolytiques telles trypsine et broméline, soit la Neuraminidase, selon des techniques antérieurement décrites (Jorgensen, 1967).

- Les réactifs anti- $A_{HP}$  et anti- $A_{HA}$  ont été préparés à partir des glandes albumine fraîches selon la technique suivante :

1 g. de glande albumine a été broyée dans 20 ml de solution saline de NaCl à 2 % ; la préparation est laissée 24 h à 4° C puis 1 h à 56° C. Puis on agite fortement et on centrifuge 5 minutes à 3 000 tpm : le surnageant est alors recueilli et réparti en ampoules sous un volume de 0,5 ml. Cet extrait est conservé congelé à -20° C. Ces réactifs ont été utilisés purs et dilués en eau physiologique (double dilution géométrique de raison 2).

- Les réactions ont été effectuées à 4° C et 22° C en microtubes. Après 2 h de contact la lecture est effectuée au microscope après étalement du mélange, aspiré à la pipette Pasteur, sur lame de verre. Les résultats sont exprimés en scores selon la technique préconisée par Race (+++ 10 ; ++ 8 ; + 5 ; (+) 2 ; - 0).

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 1) REACTIVITE DES PROTECTINES ANTI-A<sub>HP</sub> ET ANTI-A<sub>HA</sub> VIS-A-VIS DES HEMATIES A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> ET B<sub>0</sub>.

Avec notre extrait d'*Helix pomatia*, on constate qu'il existe une très légère augmentation de la réactivité vis-à-vis des hématies A<sub>2</sub> par rapport aux hématies A<sub>1</sub>, surtout si on trypsine au préalable ces échantillons (tableau II). Ce fait a d'ailleurs été signalé antérieurement par Prokop et coll. (1965-1968) et par Bizot (1971) qui considèrent qu'*Helix pomatia* réagit toujours plus fortement avec les A<sub>2</sub> qu'avec les A<sub>1</sub>. Cependant en testant différents lots d'anti-A<sub>HP</sub> nous avons pu noter que certains seulement permettaient de faire une nette discrimination entre les A<sub>2</sub> et les A<sub>1</sub>.

Tableau II - Scores d'agglutination des Anti A d'*Helix Pomatia* et *Aspersa*  
vis-à-vis des érythrocytes A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B et O

Anti A <i>Helix</i>	TECHNIQUES	ERYTHROCYTES			
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	B	O
<i>Pomatia</i>	Saline	104	106	0	0
	Trypsine	147	159	0	0
	Broméline	170	173	0	0
	Neuraminidase	154	152	121	126
<i>Aspersa</i>	Saline	100	82	0	0
	Trypsine	135	101	0	0
	Broméline	168	140	0	0
	Neuraminidase	135	133	120	121

Cet anticorps mettrait ainsi en évidence des différences qualitatives et non quantitatives entre l'antigène A des échantillons A<sub>1</sub> et l'antigène A des A<sub>2</sub>. En effet, avec les anti-A d'origine humaine on observe toujours un phénomène inverse, c'est-à-dire que la réactivité des échantillons A<sub>1</sub> est beaucoup plus grande que celle des A<sub>2</sub> et ce d'autant plus que les hématies ont été préalablement traitées par des enzymes protéolytiques. De ce fait il est généralement admis que les hématies A<sub>1</sub> sont plus riches en antigène A que les hématies A<sub>2</sub>. Quelle explication donner à un tel phénomène? Selon certains auteurs (Prokop, 1967) les déterminants A et H exerceraient l'un sur l'autre un effet d'inhibition stérique pour la constitution de l'antigène A. Chez les A<sub>1</sub> l'antigène H serait partiellement effacé, tandis que chez les A<sub>2</sub>, H diminuerait la réactivité de A, ou alors le récepteur A<sub>1</sub> des érythrocytes présente une plus grande portion de N-acetyl-D-galactosamine combinable avec l'anti-A<sub>1</sub> et l'anti-A qu'il n'est possible avec les érythrocytes A<sub>2</sub>. Cependant, pour Solomon et Rosenberg (12), la différence résiderait plutôt dans la nature de la liaison entre le N-acetyl-D-galactosamine terminal et le galactose subterminal. Ainsi y aurait-il liaison 1-4 chez les A<sub>2</sub> et liaison 1-3 chez les A<sub>1</sub>.



L'extrait d'*Helix aspersa* réagit beaucoup plus fortement vis-à-vis des échantillons A<sub>1</sub> que des échantillons A<sub>2</sub> comme le montrent les scores d'agglutination et ce, en toutes techniques. Il se comporte ainsi comme les allo-anticorps anti-A. De plus, le traitement des érythrocytes par les enzymes protéolytiques, trypsine ou broméline, augmente considérablement l'activité anti-A des protectines, aussi bien d'*Helix pomatia* que d'*Helix aspersa*. Bizot et Uhlenbruck ont montré que la papaine et la pronase avaient des effets semblables. Le traitement par la neuraminidase de tels échantillons donne les mêmes résultats, mais ici un fait nouveau apparaît : à savoir que cette enzyme démasque, sur les globules O et B, des sites réactionnels reconnus par ces deux protectines. Ces sites ont été appelés A<sub>HP</sub> par Prokop et Uhlenbruck. Ainsi dans ces protectines anti-A<sub>HP</sub> et anti-A<sub>HA</sub> ces auteurs pensent qu'il existe trois variétés de réactivités anticorps :



- une agglutinine normale réagissant en milieu sain et qui reconnaît des glycolipides de spécificité A ;

- une agglutinine "incomplète" qui reconnaît une même structure biochimique cachée et que les enzymes protéolytiques vont démasquer ;

- enfin une agglutinine qui réagit avec des cryptantigènes liés à des radicaux N-acetyl neuraminique : la neuraminidase en libérant l'acide N-acetyl neuraminique met ainsi à nu ces cryptantigènes qui deviennent alors accessibles à l'anti-A<sub>HP</sub> ou l'anti-A<sub>HA</sub>.

A partir de ces données, Prokop et Uhlenbruck (1968) ont proposé un schéma montrant la topographie du récepteur A<sub>HP</sub> sur les érythrocytes (Fig. 1 et 2).

Ces schémas expliquent de façon satisfaisante l'activité de l'anti-A d'*Helix pomatia* et également celle de l'anti-A d'*Helix aspersa*. Ces deux protectines réagissent différemment avec la N-acetyl-D-galactosamine liée en  $\alpha$  ou en  $\beta$ . Leur activité vis-à-vis du globule rouge A serait augmentée par les protéases : apparition de récepteurs  $\alpha$ -liés, et, par la neuraminidase : apparition de récepteurs  $\beta$ -liés. Leur activité hémagglutinante vis-à-vis des globules O et B traités par la neuraminidase s'expliquerait par l'apparition de radicaux N-acetyl-D-galactosamine  $\beta$ -liée.

Si l'on absorbe l'anti-A d'*Helix pomatia* ou l'anti-A d'*Helix aspersa* sur des globules O traités par la neuraminidase, c'est-à-dire ayant fait apparaître ces sites antigéniques A,  $\beta$ -liés, on constate que la réactivité vis-à-vis des globules A disparaît : Cela signifie que dans ce réactif il existe une réactivité qui correspond à la N-acetyl galactosamine  $\alpha$ -liée et à la N-acetyl galactosamine  $\beta$ -liée. Selon Bizot, la réactivité serait anti  $\alpha\beta$  N-acetyl-D-Galactosamine et non pas anti  $\alpha$  N-acetyl-D-Galactosamine + anti-  $\beta$  N-acetyl-D-Galactosamine.

On voit donc ici l'intérêt considérable de tels réactifs pour essayer d'approcher la structure biochimique des antigènes de groupes sanguins et en particulier, ici, des antigènes A.

Tableau III - Caractéristiques des antigènes A faibles

	$\beta$	$\alpha$	$\alpha\beta$	% agglutination par anti-A (alt.)	Anti A B	Salive (sujets sécréteurs)
A <sub>3</sub>	-	++	++	63 $\pm$ 10	$\frac{+}{ou}$ +++	A H
A <sub>x</sub>	-	(+)	+	35 $\pm$ 10	+ ++	[A] H
A <sub>end</sub>	-	+	+	10 $\pm$ 5	$\frac{+}{ou}$ +++	H
A <sub>m1</sub>	-	-	-	0	- ++	A H
A <sub>m2</sub>	-	-	-	0	- +++	(A) H
A <sub>e1</sub>	-	-	-	0	+ ++	H

[A] = Antigène A de type partiel

(A) = Diminution quantitative de l'antigène A

## 2) REACTIVITE DES PROTECTINES ANTI-A<sub>HP</sub> ET ANTI-A<sub>HA</sub> VIS-A-VIS DES HEMATIES A FAIBLE

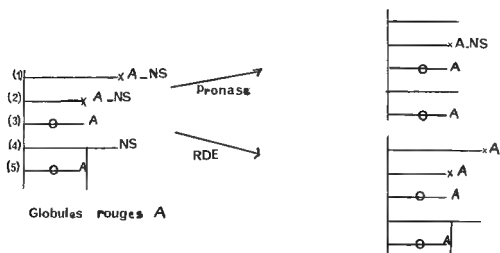
Le tableau III montre les caractéristiques de ces échantillons A faibles.

Les A<sub>3</sub> sont définis par une image de double population, avec des anti-corps anti-A de B et anti-A de sujets O. Le pourcentage d'agglutination avec un anti-A de référence est de 63  $\pm$  10. Dans leur sérum il existe rarement un anti-corps anti-A<sub>1</sub> et, dans la salive des sujets sécréteurs, on met en évidence une substance A en quantité pratiquement normale.

Le phénotype A<sub>x</sub> se définit par une agglutination de type partiel avec les anti-A de O. Le pourcentage d'agglutination est ici de 35  $\pm$  10. Dans le sérum de ces sujets il existe classiquement un anticorps anti-A qui n'est pas un auto-anticorps. Enfin, dans la salive des sujets sécréteurs, on

FIGURE 1.

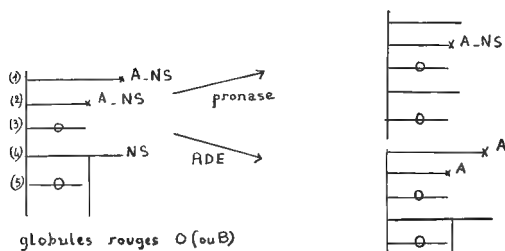
Topographie du récepteur A<sub>HP</sub> sur les érythrocytes d'après  
UHLENBRUCK et Coll.



- (1) cryptantigènes portant **AB** lié
- (2) cryptantigènes résistant à la pronase
- (3) récepteur **A** lié
- (5) récepteurs **A** glycolipidiques

FIGURE 2.

Topographie du récepteur A<sub>HP</sub> sur les érythrocytes d'après  
UHLENBRUCK et Coll.



- (1) cryptantigènes portant **AB** lié
- (2) cryptantigènes résistant à la pronase
- (3) récepteur **A** lié
- (5) récepteurs **A** glycolipidiques

met en évidence une substance A de type partiel correspondant à l'antigène A érythrocytaire : sa mise en évidence nécessite de ce fait un artifice technique qui consiste en l'utilisation, comme système révélateur dans la réaction d'inhibition, des hématies  $A_x$  elles-mêmes et non pas des hématies  $A_2$  comme on le fait classiquement pour révéler une substance A chez un sujet de groupe  $A_1$ ,  $A_2$  ou  $A_3$ .

Les  $A_{end}$  sont définis par une agglutination faible donnant une image de double population, tant avec les anti-A de sujets B que de sujets O. Dans la salive des sujets sécréteurs on ne met pas en évidence de substance A.

Cependant la distinction entre  $A_3$  et  $A_x$  n'est pas toujours aussi nette : on ne dispose pas, dans certains cas, de la salive du sujet à étudier, ou bien ce sujet n'est pas sécréteur. De plus, les pourcentages d'agglutination peuvent se chevaucher les uns les autres ; en effet ces pourcentages, pour les  $A_3$ , peuvent aller de 60 jusqu'à environ 35 et, pour les  $A_x$ , de 45 à 25 : il existe donc une zone intermédiaire où il peut être difficile de savoir à quel type d'échantillons l'on a affaire.

L'utilisation de tels réactifs et surtout de l'anti- $A_{HA}$  montre qu'il est possible de faire une distinction entre ces deux variétés d'échantillons, c'est-à-dire  $A_3$  et  $A_x$ . Etant donné la grande rareté de ces échantillons (environ 1/40 000) nous n'avons pu jusqu'alors tester que 4 échantillons  $A_3$  et 5  $A_x$ . Nous voyons que les  $A_3$  réagissent en toutes techniques avec l'anti- $A_{HP}$  alors qu'avec l'anti- $A_{HA}$  nous n'observerons de réaction positive qu'en broméline (Tableau IV).

Tableau IV - Scores d'agglutination des Anti-A d'Helix Pomatia et Aspersa vis-à-vis des érythrocytes  $A_3$ ,  $A_x$  et  $A_{end}$

Anti A Helix	TECHNIQUES	ERYTHROCYTES		
		(4) $A_3$	(5) $A_x$	(4) $A_{end}$
Pomatia	Saline	15 - 33	0	0
	Trypsine	43 - 60	0	0
	Broméline (22° C)	38 - 126	0 - 14	0
	Broméline (4° C)	N T	7 - 18	N T
Aspersa	Saline	0	0	0
	Trypsine	0	0	0
	Broméline (22° C)	44 - 84	0	0
	Broméline (4° C)	N T	0	0

(4) Nombre d'échantillons testés.

De plus, dans la technique à la broméline à 22° C, nous avons des scores d'agglutination assez forts, mais variables puisqu'allant de 38 à 126 pour l'anti- $A_{HP}$  et de 44 à 84 pour l'anti- $A_{HA}$ .

Au contraire, en ce qui concerne les  $A_x$ , en saline et en trypsine, nous n'observons aucune réactivité, tant avec l'anti-A d'Helix pomatia qu'avec l'anti-A d'Helix aspersa. L'anti-A d'Helix aspersa, d'ailleurs, ne réagit - quelle que soit la technique - contre aucun des échantillons testés. Par contre, la broméline permet à l'anti- $A_{HP}$  de réagir avec ces échantillons  $A_x$  et beaucoup mieux à 4° C qu'à 22° C. Ceci confirme un précédent travail, ainsi que les résultats de Chatteraj et coll. (1968) et de Bizot (1971). En ce qui concerne les phénotypes  $A_{end}$  nous n'avons noté aucune réactivité de ces échantillons.

Le tableau V montre l'action de ces mêmes réactifs vis-à-vis d'érythrocytes A qui ne sont plus définis par des réactions d'agglutination. Ici l'antigène A est mis en évidence seulement par des réactions de fixation-élution, avec des anti-A. Ce sont :

**Tableau V - Scores d'agglutination des Anti-A d'Helix Pomatia et Aspersa  
vis-à-vis des érythrocytes  $A_m$  et  $A_{el}$**

Anti-A Helix	TECHNIQUES	ERYTHROCYTES		
		(1) $A_{m1}$	(2) $A_{m2}$	(2) $A_{el}$
Pomatia	Saline	0	0	0
	Trypsine	0	0	0
	Broméline (22° C)	0	0	0
	Broméline (4° C)	1 - 5	0 - 2	0
Aspersa	Saline	0	0	0
	Trypsine	0	0	0
	Broméline (22° C)	0	0	0
	Broméline (4° C)	0	0	0

(1) Nombre d'échantillons testés.

- d'une part, les phénotypes  $A_m$  dont nous pouvons définir deux variétés : les  $A_{m1}$ , mendéliens, sécrétant de la substance A salivaire en quantité élevée (rapport  $A/H > 4$ ), donnant des scores d'élué élevés avec les anti-A (25 à 50), les  $A_{m2}$ , non mendéliens (l'hypothèse d'un gène y en double dose inhibant l'expression de A a été émise par Wiener), sécrétant une plus faible quantité d'antigène A salivaire (rapport  $A/H < 1$ ). L'élué de l'anti-A est difficile et les scores des élués anti-A sont très faibles (5 à 10).

- d'autre part, les  $A_{el}$  définis par une fixation-élué positive avec un anti-A, un anticorps anti- $A_1$  ou A sérique, l'absence de substance A salivaire chez ce sujet qui pourtant sécrète de la substance H.

Le tableau montre les différents résultats obtenus :

Un seul échantillon  $A_{m1}$  a pu être testé : il réagit seulement en broméline à 4° C et son score d'agglutination est de 15. Ceci confirme le résultat qu'avait trouvé Bizot sur, également, un échantillon de même type (2).

Parmi les deux échantillons  $A_{m2}$  testés, un seul a réagi (score 2) et seulement avec l'anti- $A_{HP}$  ; enfin nous n'avons observé aucune réactivité vis-à-vis des deux échantillons  $A_{el}$ .

### 3) REACTIVITE DES ANTI- $A_{HP}$ ET ANTI- $A_{HA}$ VIS-A-VIS DES ECHANTILLONS AB

Dans le tableau VI nous avons comparé différentes variétés d'échantillons AB : Ceux que nous pourrions appeler trans-AB, et qui sont représentés par pratiquement tous les sujets AB, et les exceptionnels sujets cis-AB qui sont caractérisés par la présence simultanée des antigènes A et

**Tableau VI - Scores d'agglutination des Anti-A d'Helix Pomatia et Aspersa  
vis-à-vis des érythrocytes Cis AB,  $A_1B$ ,  $A_2B$**

		Cis $A_1B$	Cis $A_2B$	$A_1B$	$A_2B$
H. Pomatia	Saline	71	67	45	47
	Trypsine	111	113	96	78
	Broméline	136	149	144	115
H. Aspersa	Saline	47	27	52	0
	Trypsine	32	0	100	50
	Broméline	138	144	132	70

B sur les érythrocytes, un antigène B qui n'est pas comparable au B normal (ce qui est montré par les résultats des études d'agglutination quantitative, le profil immunologique et l'étude thermodynamique (Salman et al., 1973), un anticorps anti-B sérique qui n'est pas un auto-anticorps mais bien un allo-anticorps et surtout, fait capital, l'étude génétique familiale montre que ces antigènes A et B sont sous la dépendance d'un seul gène au locus ABO (Figure 3).

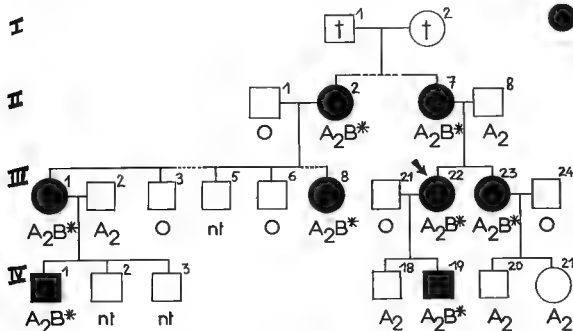


FIGURE 3

### Famille BRI.

Deux faits peuvent être notés de l'analyse des résultats : l'antigénicité  $A_{HP}$  est beaucoup plus importante chez les cis-AB et il ne semble pas y avoir de différence entre le cis- $A_1B$  et le cis- $A_2B$ . Nos résultats confirment ceux de Bizot (1971) qui avait antérieurement testé l'échantillon cis- $A_1B$  mais ceux concernant le cis- $A_2B$  contredisent ce qu'il avait pensé d'un tel échantillon, à savoir que le cis- $A_2B$  devrait se comporter comme un  $A_2B$ .

L'antigène A des cis-AB est vraisemblablement différent sur le plan qualitatif de l'antigène A des sujets  $A_1B$  et  $A_2B$ . Ceci semble confirmé par la réactivité paradoxale de l'anti- $A_{HA}$  : en effet la trypsine semble détruire les sites antigéniques  $A_{HA}$  puisque les scores passent de 47 à 32 pour le cis- $A_1B$  et de 27 à 0 pour le cis  $A_2B$ . Ce point particulièrement important demande à être confirmé par l'étude d'autres échantillons cis-AB. Si ces résultats se vérifiaient on aurait ainsi un moyen simple de différencier un cis AB et un AB classique : en effet, il suffirait de tester en saline et en trypsine la réactivité de l'anti- $A_{HA}$  vis-à-vis de ces échantillons :

- si la trypsine augmente la réactivité de l'anti- $A_{HA}$  il doit s'agir d'un AB classique ;
- si la trypsine diminue ou fait disparaître la réactivité de l'anti- $A_{HA}$  on peut évoquer un phénotype cis-AB ce qui, évidemment, serait à confirmer par des études génétiques familiales, quantitatives, de cinétique d'agglutination et de thermodynamique qui, seules, permettent à l'heure actuelle une définition très précise d'un phénotype ABO érythrocytaire.

Il est un autre point, observé d'ailleurs par de nombreux auteurs, à savoir que l'anti- $A_{HP}$  réagit très faiblement avec certains échantillons  $A_2B$  surtout si la réaction est effectuée sur plaque d'opaline, ce qui est le cas dans la détermination des groupes ABO. Pourtant ces échantillons  $A_2B$  non reconnus par l'anti- $A_{HP}$  font disparaître par absorption la réactivité anticorpale aussi efficacement que les autres  $A_2B$ , comme l'a montré Bizot.

Pour cet auteur, cette diminution de la réactivité pourrait être due à un empêchement stérique plus ou moins important selon les  $A_2B$  considérés, inhibant plus ou moins l'agglutination, selon la grosseur et la conformation de la molécule d'anticorps utilisée.

#### 4) INHIBITION PAR LES SUCRES SIMPLES

Il a été montré par certains auteurs (Bizot, *supr. cit.* - Uhlenbruck et Prokop, 1966) que les sucres simples avaient la propriété de neutraliser l'activité agglutinante des anticorps et plus particulièrement des lectines et des protectines.

Ainsi les anti-A<sub>HP</sub> et anti-A<sub>HA</sub> sont neutralisés par la N-acetyl-D-galactosamine dont on sait que c'est le sucre immunodominant de l'antigène A. Par contre, comme l'a montré Bizot, le maltose, la salicine, le D-galactose (sucre immunodominant de l'antigène B), le L-fucose (sucre immunodominant de l'antigène H), le D-ribose et l'acide N-acetyl neuraminique n'ont aucune activité inhibitrice (Tableau VII).

Tableau VII - Réaction d'inhibition de l'Anti-A d'Helix Pomatia  
par des sucres simples (Bizot 1971)

Sucres utilisés	Globules rouges A <sub>1</sub>	
	en Saline	Bromélines
Maltose	#	+
Salicine	+	+
D - Galactose	+	+
L - Fucose	+	+
N. Ac. D - Galactosamine	-	-
D - Ribose	+	+
Ac. N. Ac. Neuraminique	+	+
Témoin	+	+

Ces résultats sont comparables, que les hématies soient en suspension saline ou préalablement traitées par des enzymes protéolytiques.

De même, ces réactions d'inhibition permettent de montrer que la neuraminidase démasque sur les hématies O ou B des sites A<sub>HP</sub> ou A<sub>HA</sub> dont le sucre immunodominant est bien la N-acetyl-D-galactosamine.

#### CONCLUSIONS

Au vu de nos résultats et de ceux de nombreux auteurs, il ne fait pas de doute que certaines protectines d'escargots sont appelées à être utilisées quotidiennement par l'immunohématologiste.

Tout d'abord, comme nous l'avions antérieurement souligné, il serait des plus important que les centres de transfusion faisant plusieurs centaines de groupages quotidiens puissent disposer d'un réactif anti-A puissant, facile à obtenir et peu cher : mais ici l'écueil réside dans le fait que la majorité des lots d'anti-A<sub>HP</sub> ou anti-A<sub>HA</sub> ne réagissent pas avec certains A<sub>2</sub>B qui, de ce fait, pourraient être considérés comme des B, ce d'autant plus qu'il n'est pas rare que ces sujets possèdent un anti-A<sub>1</sub> sérique. Cet écueil n'a pas permis dans l'immédiat son utilisation systématique dans les groupages en grande série. Bizot pensait résoudre ce problème en utilisant des extraits purifiés selon la méthode de Bhatia et coll. (1967) mais ses essais se sont traduits par un échec.

Il semble donc qu'il faille plutôt s'orienter vers d'autres espèces d'escargots et c'est en ce sens que travaillent de nombreuses équipes, puisque nous avons vu que 57 espèces avaient été jusqu'alors étudiées.

Mais il est deux autres intérêts qui nous semblent plus importants, à savoir, d'une part, leur réactivité vis-à-vis de phénotypes rares, d'autre part leur utilisation, associées aux lectines et aux allo-anticorps provenant d'espèces variées, pour essayer d'approcher la structure biochimique de l'antigène A, en particulier (étant entendu que ce travail est également possible pour d'autres antigènes tels B, H, M, N etc... car on possède maintenant quelques lectines et protectines ayant de telles spécificités).

En ce qui concerne les phénotypes A faibles nous avons montré qu'il était possible de différencier les phénotypes  $A_3$  et  $A_x$  et peut-être aussi  $A_m$  et les  $A_{e1}$ .

Les résultats concernant les  $A_3$  et les  $A_x$  confirment une étude que nous avons faite antérieurement et les travaux de Bizot (Supr. cit.) et de Chatteraj et coll. (1968). Mais pour les  $A_m$  et les  $A_{e1}$  trop peu d'échantillons ont été testés pour affirmer une telle conclusion.

L'autre point intéressant est la réactivité vis-à-vis des cis-AB : nous avons vu que la trypsine semblait détruire le site  $A_{HA}$ . Ce point demandera à être confirmé sur d'autres variétés de cis-AB : dans ce cas, cela pourrait signifier que cet échantillon a un antigène A qui n'est en rien comparable à ceux connus, puisqu'habituellement les enzymes augmentent la réactivité A - anti-A. De plus, des études faites dans notre laboratoire semblent montrer que l'antigène B n'est en rien comparable à un antigène B normal : ainsi de nombreux arguments nous amènent à penser que cet antigène "AB" serait, en fait, un antigène A particulier donnant une réaction croisée avec les anti-B : il s'agirait d'un mutant de A au locus ABO.

Enfin, nous avons vu que ces protectines possédaient une activité agglutinante inhibable par la N-acetyl-D-galactosamine. Mais surtout les études d'Uhlenbruck et Prokop, complétées par celles de Bizot, ont montré que les anti- $A_{HP}$  et anti- $A_{HA}$  ne sont pas des anti- $\alpha$  N-acetyl-D-galactosamine +  $\beta$  N-acetyl-D-galactosamine, mais bien une nouvelle activité de spécificité anti- $\alpha$ ,  $\beta$  N-acetyl-D-galactosamine.

\* \* \* \*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BHATIA H. M., BOYD W. C. A. & BROWN R., 1967. - Serological and immunochemical studies of snail (snail (*Otala lactea*) anti-A : a single purification method. *Transfusion* (Philadelphia), 7 : 53-59.
- BIZOT M., 1971. - Hemagglutination des globules rouges par les extraits de gastéropodes terrestres. Thèse de Pharmacie, Montpellier, 128 p.
- BOYD W. C. & BROWN R., 1965. - A specific agglutinin in the snail *Otala lactea* *Nature*, 208 : 593.
- CHATTORAJ A., GILBERT J. R. & JOSEPHSON M., 1968. - Specific agglutination of human  $A_3$  and  $A_x$  erythrocytes by snail anti-A. *Transfusion*, 8 : 37.
- JORGENSEN J. R., 1967. - Prenatal T transformation : a case of polyagglutinable cord blood erythrocytes. *Vox Sang.*, 13 : 225.
- KHALAP S., THOMSON T. E. & GOLD R., 1970. - Haemagglutination and haemagglutination-inhibition reactions of extracts from snails and sponges. *Vox Sang.*, 18 : 501.
- PROKOP O., 1967. - Die Helix agglutinine. *Allergie und Asthma*, 13 : 96.
- PROKOP O., UHLENBRUCK G. & KOHLER W., 1968. - A new source of antibody-like substance having anti-blood group specificity. A discussion on the specificity of Helix agglutinin. *Vox Sang.*, 14 : 321.
- PROKOP O., RACWITZ A. & SCHLESINGER D., 1965. - A new human blood group receptor A tested with saline extracts from *Helix hortensis* (garden snail) *South Afr. Forens. Med.*, 12 : 108.

- SALMON CH., LOPEZ M., GERBAL A., BOUGUERRA A., CARTRON J.P., 1973. - Current genetic problems in the ABO blood group system. A paraître, *Biomedecine-Biomedicine*.
- SOLOMON J.M. & ROSENBERG M.B., 1968. - Quantitative haemagglutination inhibition of lectines by simple sugars, 11 th. Congress of the int. Soc. of Blood Transfusion, SYDNEY (1) : 202.
- UHLENBRUCK G. & PROKOP O., 1966. - An agglutinin from *Helix pomatia* which reacts with terminal N-acetyl-D-galactosamine. *Vox Sang.*, 11 : 519.
- UHLENBRUCK G., OTTEN H., REHFELDT U., REIFENBERG U. & PROKOP O., 1968. - Enzymatischer Abbau der Erythrozytenmembran : Topochemie verschiedener  $A_{hel}$  - Rezeptoren sowie Nachweis "inkompletter" Antikörper durch Subtilisin A Behandlung. *Z. Immunforsch.*



## ETUDE SUR LA DISPERSION ET LES CONDITIONS D'ELEVAGE DE *LYMNAEA TRUNCATULA*

par G. RICOU (1) avec la collaboration technique de R. FERRET et M. JOUIS

### RESUME

La définition exacte des gîtes à *Lymnaea truncatula* dans des prairies échantillonnées plusieurs années de suite permet d'observer des déplacements de populations passifs et actifs. Un bassin de boue et d'eau a été aménagé pour mesurer ces derniers ; les mesures ont été réalisées pendant 2 mois sur des lots de limnées peintes et la moyenne journalière est de 14 à 15 cm, les valeurs limites étant 0-35 cm.

La conservation des limnées au laboratoire est réalisée dans des bacs doubles poreux, remplis de terre mouillée. Le développement assez faible des algues est complété par l'apport de pain azyme (cachets) dont l'appétence est très bonne. Les conditions semi-naturelles permettent une croissance normale des limnées et l'obtention de sujets de grande taille (11 mm), mais pas une forte production.

### SUMMARY

In pastures, sampled on few years, characteristic sites of *Lymnaea truncatula* are well-known ; passive and active dispersion is observed. An area with mud and water was set to measure the rate of active dispersion. Such an experiment was undertaken with shell-painted snails, during 2 months ; the daily mean is 14-15 cm, extrem values of dispersion 0-35 cm.

Snails are conserved in laboratory by using porous double containers, full of wet earth. To alga which grow too weak is added azyme, the appetency of which is very good. In semi-natural conditions is got a normal rate of growth and large size individuals (11 mm), but no important production.

\* \* \* \*

Dans le cadre d'une étude concertée sur le thème des Mollusques vecteurs de *Fasciola hepatica* et des traitements applicables à la prairie permanente, nous avons été amenés à faire de nombreux échantillonnages de populations de Limnées.

Le contrôle, durant 4 années consécutives, des populations vivant dans des prairies consacrées à l'expérimentation du molluscicide N-trityl morpholine (Ricou, 1967 ; Caillier, Pitois, 1972), les prospections faites dans le domaine I.N.R.A. de Saint-Laurent-de-la-Prée (Charente) et dans de nombreuses prairies en France, nous ont permis de caractériser les gîtes à Limnées. Ainsi que Mozley (1957) et d'autres observateurs l'ont montré, ils sont extrêmement localisés aux endroits boueux exposés à la lumière, non recouverts d'herbe : bords de ruisseaux, fossés, zones de piétinement du bétail.

On peut ainsi définir, dans une prairie humide, deux types de zones d'infestation : les unes permanentes car toujours humides et dépourvues d'herbe, les autres temporaires car susceptibles de s'assécher et d'offrir des conditions favorables à la repousse de la végétation, donc d'éliminer leurs populations de Limnées.

(1) Laboratoire de Zoologie I.N.R.A. - 16, rue Dufay - ROUEN.

La répartition des populations de Limnées amphibiées, plus ou moins nettement du type *truncatula* au sens strict, apparaît absolument liée à des conditions écologiques qui ont déjà été définies par divers chercheurs (Moens, 1970) et qui limitent les possibilités d'extension de ces espèces sur le terrain.

Il est donc aisé de localiser les zones à gîtes dans les prairies. Au cours des années défavorables, par exemple les années sèches de 1970 à 1972, elles sont limitées aux zones permanentes car l'association sol/eau/herbe tend à les éliminer : le sol sec se déforme bien moins sous le poids du bétail et les gîtes disparaissent, d'autant que la végétation a tendance à les occuper.

Toutefois, malgré cette localisation des gîtes, des phénomènes de repeuplement passif ont lieu et compliquent les observations. De tels transferts ont été enregistrés dans des prairies de la vallée de la Charentonne :

- A St-Aignan de Cernières, prairie à deux zones permanentes de populations atypiques de petite taille (5-6 mm). En 1969, troisième année d'observation, apparition d'une population printanière de *L. truncatula* typiques, de grande taille : 10-12 mm, à la suite de la crue de la Charentonne.

- A La Trinité de Réville, où les localisations sont connues aussi depuis 1967, apparition au printemps 1972 d'une population dans un nouveau gîte constitué par la berge de la Charentonne.

Ces migrations par transfert passif sont également très visibles dans les milieux aquatiques, cressonnières par exemple, ou après disparition des fonds de bassins d'importantes populations de *Limnaea limosa*, il faut compter 2 mois en moyenne pour le repeuplement par la source (Ricou, Jouis, 1964).

Ce phénomène de localisation assez stricte des Limnées n'exclut pas des possibilités de déplacement propre puisque les nouveaux gîtes ne sont pas uniquement colonisés par des transferts passifs. Ce sont ces possibilités que nous avons essayé de définir.

#### POUVOIR DE DISPERSION DE LIMNAEA TRUNCATULA

Un bassin artificiel de 2 m x 1 m 50 a été aménagé dans le terrain du laboratoire avec de la boue provenant de la vallée de la Charentonne. La boue a été laissée 15 jours en place pour permettre le développement des algues en surface, destinées à nourrir les limnées. Ensuite la dépression centrale a été mise en eau selon les coordonnées de la figure 1.

L'essai a été réalisé avec 104 *L. truncatula* (taille 5 mm) provenant d'une prairie située à Torcy (vallée de la Varenne) réparties en 4 lots à l'intérieur des carrés A, B, C, D. Les 4 lots étaient marqués de couleurs différentes A rouge, B, vert, C jaune, D bleu, à l'aide d'un point de peinture sur la coquille. L'essai a duré 2 mois (21-3-1969 - 19-5-1969) et a comporté 23 contrôles de mesure du déplacement de chacun des individus.

Le principe a donc consisté à répartir les limnées en 4 lots situés à la limite boue - eau, afin d'enregistrer tout d'abord l'existence de déplacements et, en second lieu, le sens préférentiel vers la boue ou vers l'eau et l'intensité des déplacements. Tous les déplacements sont référés à l'origine (A, B, C, ou D) selon la couleur de l'individu, de sorte qu'ils sont cumulés au cours des contrôles, ainsi que les comptages des nombres d'individus. Les résultats sont rassemblés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Déplacements moyens journaliers de *Limnaea truncatula* durant 2 mois, sur fond de boue et sous l'eau (pour  $P = 0,05$ ,  $t = 2,08$ ).

	Nombre de Limnées (cumulé)		Déplacements en cm (x + )	
	Boue	Eau	Boue	Eau
Lot A	157	54	15 ± 6	14 ± 8
Lot B	136	52	12 ± 7	12 ± 7
Lot C	124	73	15 ± 6	14 ± 6
Lot D	158	112	15 ± 10	18 ± 5

Les résultats montrent que les individus de l'espèce étudiée vivent indifféremment sur le sol humide ou dans l'eau. On note toutefois un pourcentage supérieur sur le sol : 74 %, 72 %, 62 %, 58 %. Les déplacements moyens journaliers sont du même ordre de grandeur pour tous les lots. En moyenne, une limnée peut se déplacer de 14 à 15 cm par jour, que ce soit sur un sol humide ou un fond couvert d'eau. L'observation des histogrammes des fréquences classées par tranches de déplacement de 10 cm, de 0 à 100, montre des classes très groupées de 0 à 60 cm, sur le sol, pour les 4 lots, et une plus grande variabilité dans l'eau. C'est ce phénomène qui, dès la 2ème semaine de l'essai, produit un mélange des lots qui devient total au cours de la 2ème semaine (fig.2). Les écarts-types sont élevés, montrant la variabilité des déplacements car, si la moyenne journalière est proche de 15 cm, les limites fiduciales indiquent que les valeurs des déplacements sont incluses entre 0 et 35 cm.

Les conditions climatiques durant les 2 mois ont été favorables au maintien d'une bonne activité. D'après le poste météorologique du terrain :

Mars - Tres : min. 0° - max. 20° - HR : min. 20 % - max. 85 %.  
 Avril - Tres : min. 5° - max. 33° - HR : min. 20 % - max. 90 %.  
 Mai - Tres : min. 8° - max. 44° - HR : min. 20 % - max. 90 %.

Précisons que des observations avaient d'abord été réalisées dans une prairie, avec des exemplaires de *L. truncatula* peints en rouge, mais qu'il est très difficile de les retrouver au-delà de 1 mois, de sorte que l'interprétation apparaît de peu de valeur. D'autre part, des enregistrements continus des déplacements, par caméra automatique, ont été réalisés par Cromlinck (communication orale) par des limnées aquatiques ; ils montrent un taux de déplacement assez important.

## CONSERVATION DES LIMNEES AU LABORATOIRE. CONDITIONS D'ELEVAGE

Nous avons essayé divers procédés pour conserver et élever, si possible, des limnées afin de mieux comprendre la dynamique de *L. truncatula*.

Divers modes d'élevage ont été utilisés par les chercheurs anglais et belges intéressés par des problèmes de biologie de l'espèce ou d'infestation artificielle par les miracidies de la douve. Kendall (1953) a démontré l'importance des algues qui poussent naturellement sur la boue, pour la réussite de l'élevage. Les limnées consommeraient les matériaux végétaux rencontrés sur leur passage mais l'élevage ne serait prospère (croissance rapide : maturité sexuelle en 3 mois après éclosion ; fort pouvoir reproducteur : jusqu'à 25 000 descendants en 12 semaines en 2 générations) que grâce à la consommation de desmides, diatomées, etc... Une supplémentation de chaux en poudre et de biscuit d'avoine est apportée par le même auteur.

Nos premiers essais ont été réalisés en laboratoire dans des bacs plastiques où les limnées trouvaient une pente boueuse et une petite flaque d'eau. Mais le développement des algues était insuffisant et le supplément de son de blé, très apprécié des limnées, moisissait trop vite. L'utilisation de cultures pures d'algues en boîtes de Pétri, permet un bon développement des limnées, selon Ollerenshaw (élevage de Weybridge).

Des essais ont ensuite été réalisés en chambre de forçage sous batterie de 8 tubes phytorel (1 m 20). L'installation était assez proche de celle qui est utilisée au laboratoire de Sittingbourne (Shell) : bacs constamment humides, remplis d'une couche de terre provenant de la partie superficielle d'une prairie et maintenus 15 jours sous tubes pour obtenir un bon développement des algues. Les bacs sont ensuite utilisés pour l'élevage et remplacés tous les mois par des nouveaux. La photopériode appliquée était de 16 h, la température de 20° C.

Ce mode d'élevage a été expérimenté à partir d'éclosions obtenues au laboratoire en septembre 1969. Il comporte l'utilisation de bacs doubles, avec une batterie de 10 terrines en terre (32 cm de côté / 8,5 cm de hauteur) contenant le substrat ; chacune est plongée dans un bac en fibrociment dans lequel on maintient un niveau d'eau élevé. Ce système permet d'obtenir un gradient d'humidité valable dans les terrains que l'on recouvre d'une plaque de verre. Toutefois les résultats ne furent pas à la mesure de l'installation. Le développement d'une génération a été obtenu entre septembre et mars de l'année suivante ; mais la production d'algues est insuffisante puisque la plupart des limnées élevées n'ont pas dépassé 3 à 4 mm (hauteur de la coquille) et sont mortes sans se reproduire.

Des essais réalisés en 1970 au laboratoire, à partir d'une génération d'automne, pour étudier une supplémentation de la nourriture, nous ont amenés à disposer des feuilles de laitue bouillies dans les bacs (Fisher, 1968), à saupoudrer le substrat de farine de blé et à imprégner une partie de la surface d'une solution de calcium soluble. L'élevage des limnées, à l'éclosion, est en effet assez complexe, du fait que celles-ci quittent le milieu s'il ne leur convient pas. En particulier, elles s'assemblent sur les parois, au-dessus de la limite d'humidité et meurent desséchées. Il semble que ce fait ait été observé par divers auteurs. Les suppléments de nourriture sont sans effet dans un tel cas.

Une formule de stockage, réalisée avec le même système : terrines doubles recouvertes par une vitre, substrat de terre en mai 1971 avec 42 limnées adultes (*L. truncatula*) provenant d'une prairie (Mésangueville). Les mesures des coquilles : h = 3 à 8 mm - majorité 4 à 5 mm - montrent qu'il s'agit de la génération de l'automne précédent. Les terrines ont été maintenues en conditions non plus artificielles mais semi-naturelles : serre froide. Une supplémentation d'amidon est ajoutée sous forme de pain azyme (couvercles de cachets) qui présente l'avantage de ne pas moisir et d'être bien consommé. La conservation d'un stock moyen de limnées est assurée par ce système (tableau 2) la croissance est normale dans ces conditions semi-naturelles (fig. 3).

Tableau 2 - Croissance des limnées

Mois	05-71	10-71	12-71	03-72	04-72	05-72	06-72	10-72	12-72
Nombre	52	107	107	71	71	61	61	71	70
Génération 1	3	10							
Taille en mm	4	9							
	5	10							
	6	—							
	8	10	10	11	11	11	11	11	11
Génération 2		1	2	3	3	3	3	5	6
Taille en mm						4	4	6	7
							5		

L'appétence excellente des enveloppes de cachets permet de prévoir que l'intérieur pourrait être utilisé pour y ajouter diverses matières nutritives.

La mise au point d'une technique d'élevage intensif a été réalisée au Laboratoire de Gembloux ; toutefois la production massive de limnées exige une dépense de temps importante et elle correspond à des buts définis et temporaires. Le maintien, au laboratoire, d'un élevage de conservation, même faiblement productif mais facile à réaliser et à entretenir, suffit dans bien des cas.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CAILLIER (R. L.), PITOIS (M.), 1972. - Prévention de la Fasciolose ovine à l'aide du trifenmorph. Quatre années d'observations sur une prairie en Normandie. *Econ. et Méd. Anim.* 13, 2, 73-82.
- CAILLIER (R. L.), RICOU (G.), PITOIS (M.), 1970. - Fascioliasis, 2 years of experience in France. In *Proc. Symposium : The control of fascioliasis*, London, 23 - 25-2-1970, 20 pp.
- FISHER (T. W.), 1968. - Boiled lettuce and cress as diet supplements for certain species of molluscs. *The veliger*, 10, 4, 446-7.
- KENDALL (S. B.), 1953. - The life history of *Limnaea truncatula* under laboratory conditions. *Helminth.*, 27, 1/2, 17-28.

MOENS (R.), 1970. Techniques chimiques de destruction des gîtes à limnées dans les prairies. In Colloque : L'assainissement des prairies par les traitements molluscicides, Gembloux, 16-4-1970, 32-55.

MOZLEY (A.), 1957. - Liver-fluke snails in Britain. Lewis et Co, London, 55 p.

RICOU (G.), JOUIS (E.), 1964. - Fertilisation et entretien sanitaire des cressonnières. Rev. Soc. Sav. Hte-Norm., Sci, 33, 7-19.

RICOU (G.), 1967. - Observations on the infestation of fascioliasis biotopes with Lymnaeid snails. In II<sup>nd</sup> Int. Liverfluke Colloquium, Wageningen, 2- 6-10-1967, 155-6.

FIGURE 1 INSTALLATION DE L'ESSAI

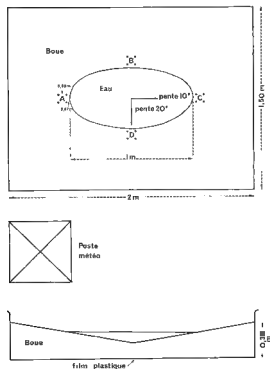
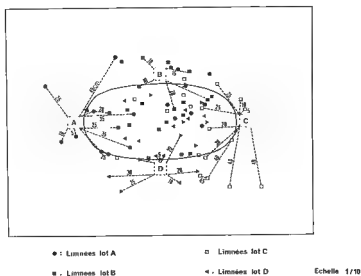
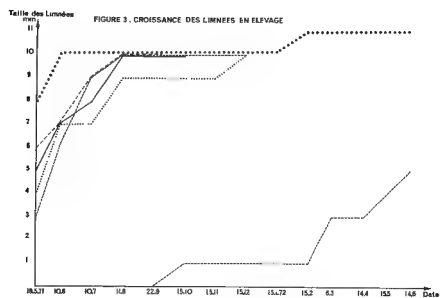


FIGURE 2 DISPERSION DES LIMNÉES AU COURS DU 4<sup>ème</sup> CONTRÔLE (10.4.69)





# LE MARCHÉ DES MOLLUSQUES EN FRANCE

par V. LECOMTE (1)

## RESUME

Nous donnons ici quelques statistiques concernant le marché français des mollusques terrestres.

## SUMMARY

Some data are given here on the market of land snails in France.

\* \* \* \*

Nous nous bornerons ici, à l'aide de quelques chiffres aimablement communiqués par le Centre National du Commerce Extérieur à brosser un tableau rapide du marché français. Nous ne pourrions commenter plus avant ces chiffres par manque de formation suffisante dans ce domaine.

TABLEAU I - Escargots frais ou congelés

PAYS	1969			1970 Tonnes	1971 Tonnes
	Tonnes	103 Fr Total	Fr le kg		
Turquie	1819,4	15 506	852	2150	2052
Allemagne Fédérale	1804,5	5 504	309	1225	864
Yougoslavie	502,7	1 585	315	1028	880
Hongrie	277	816	294	596	870
Grèce	465,5	1 449	311	562	1 155
Pologne	310	1022	329	431	6
Autriche	112,6	684	610		
Albanie	164,7	324	197	302	222
Roumanie	141,9	423	300	253	410
Tchécoslovaquie	46,1	129	280	119	140
Suisse	125,0	599	479	118	115
Algérie	90,8	132	146	99	172
Bulgarie	13,7	168	1 292	47	65
Syrie	11,8	27	245	38	102
Espagne	22,6	98	445	27	38
Allemagne (zone soviétique)	13,8	40	307	19	6
Italie	14,3	26	185		18
Chine (République populaire de)	0,2	1	50		27
U. R. S. S.	12,1	37	308		
Grande-Bretagne	0,4	5	125		
Sénégal	0,2	1	50		
Portugal					
Maroc	1,6	4	400		
Union indienne Sikkim	6,2	19	316		
Tunisie	1,5	2	200		
Australie				349	269
Liban					25
Divers				15	
TOTAL	5 958,6	28 601		7 378	7 621

(1) Laboratoire de Zoologie I.N.R.A. - 16, rue Dufay 76 100 - ROUEN.

TABLEAU II - Importations d'escargots préparés ou conservés

PAYS	1969			1970 1970 Tonnes	1971 1971 Tonnes
	Tonnes	103 Fr Total	Fr le Kg		
Grèce	2,3	25	10,86	15	3
U.E.B.L.	0,6	6	10,00		
Espagne	3,2	10	3,12		10
Turquie	10,5	82	7,80		
Maroc	0,9	3	3,33		
Suisse	0,7	6	8,57		
Belgique				9	4
Allemagne Fédérale	0,5	6	12,00		13
Divers				5	
TOTAL	18,7	138		29	30

Nous constatons que la France est surtout importatrice d'escargots non préparés. En effet, la transformation est effectuée par l'industrie nationale de la conserve.

Nous pouvons noter que plus de 60 % des importations ne proviennent que de quatre pays principaux : la Turquie, l'Allemagne Fédérale, la Yougoslavie, la Grèce. L'Allemagne Fédérale ne peut être considérée comme un producteur important : son chiffre d'exportation comprend des récoltes provenant de pays balkaniques et qui transitent ; les populations de mollusques de consommation en Allemagne Fédérale sont, pour les mêmes raisons qu'en France, et malgré les lois qui en assurent la protection, en voie de raréfaction.

Pour les exportations :

TABLEAU III - Escargots frais

PAYS	Export	
	1970	1971
Belgique		8
R F A	5	12
Divers	14	8
TOTAL	19	28

TABLEAU IV - Escargots préparés

PAYS	Export	
	1970	1971
Belgique	118	183
Pays-Bas	38	46
R.F.A.	131	178
Italie	54	63
Grande-Bretagne	66	75
Suède	17	10
Danemark	9	9
Suisse	19	18
Autriche		7
Espagne	3	4
Côte d'Ivoire	5	5
Nigéria		9
Afrique du Sud	31	24
U S.A.	415	417
Canada	118	126
Vénézuëla	11	
Japon	29	13
Hong Kong	10	13
Australie	11	17
Nouvelle-Calédonie	5	
Polynésie	9	
Divers	68	82
TOTAL	1 167	1 297



La France se montre, par ces quelques chiffres, exportatrice d'un produit valorisé par rapport au produit brut. Nous pouvons remarquer que près de 50 % de ces exportations sont dirigées vers l'Amérique du Nord dont il serait intéressant d'étudier plus en détail les potentialités du marché.

Enfin, il importe de faire un bilan.

TABLEAU V - Bilan financier du commerce extérieur

Importations d'escargots frais ou congelés

1970	1971
44 660 000 Fr	51 675 000 Fr

Exportations d'escargots préparés

1970	1971
17 695 000 Fr	20 884 000 Fr

Ce bilan ne tient pas compte de la consommation intérieure qui est elle aussi tributaire des importations.

\* \* \* \*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

GAUTHIER B., de la TAILLE H., 1971. - La commercialisation des escargots en France. Diplôme de fin d'études de l'Ecole Supérieure d'Agriculture d'Angers.



# REPARTITION EN FRANCE ET IMPORTANCE ECONOMIQUE DE L'ESCARGOT DE BOURGOGNE, *HELIX POMATIA* LINNE

par H. CHEVALLIER

## RESUME

La France utilise de grandes quantités d'*Helix pomatia* pour la nutrition, l'enseignement ou la recherche biologique et médicale. Elle doit en importer de grandes quantités mais partout cette espèce est actuellement menacée d'extinction.

En conséquence, il paraît important d'étudier le cycle biologique de cette espèce afin de pouvoir promouvoir son élevage industriel.

## SUMMARY

France uses a large quantity of *Helix pomatia* mainly for consumption but also in teaching zoology and in biological and medical researches. As the Roman Snails collected in France are insufficient for the national demand, the french canning industry imports snails from Germany, Austria, Hungary, Poland, Czechkoslovakia, Yugoslavia, Switzerland, etc. However the species is becoming threatened more and more with extinction in these countries also. It is therefore important to envisage productive cultivation of *Helix pomatia* in order to palliate a severe shortage that could occur within a few years. Efforts in this direction have already been made in Germany and Austria (G. Hein, Nawratil, Nietzke... ). We can already benefit from traditional cultivation methods which were employed until about 1950 (this farming was a fattening and a "closure" of adult or preadult animals collected from nature). However, for truly productive cultivation, fundamental research must be undertaken on the biological cycle, sexuality, growth, population dynamics and epidemiology of the species, for until now practically no work of this sort has been done as well for *Helix pomatia* as for the other species of the genus *Helix*.

\* \* \* \*

## I - POSITION SYSTEMATIQUE DE L'ESPECE

Classe : Gastropoda - Sous-classe : Euthyneura - Infra-classe : Pulmonata.

Ordre : Stylommatophora - Sous-ordre : Sigmurethra - Infra-ordre : Holopoda.

Super-famille : Helicacea - Famille : Helicidae - Sous-famille : Helicinae.

Genre : *Helix* Linné, 1758 - Sous-genre : *Helix* s. s. Germain, 1930 - *Pomati* Leach, 1831 = *Helicogena* (Férussac, 1821) Hesse, 1920.

(1) Muséum National d'Histoire naturelle. Laboratoire de Biologie des Invertébrés marins et de Malacologie, 55, rue de Buffon, PARIS, 5e.

## II - TAXONOMIE, ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE

On se reportera au travail de Hesse (1920) pour la taxonomie de l'espèce et des autres espèces du genre *Helix* et aux monographies de Yung (1887), Meisenheimer (1912) et Kilias (1960) pour les données sur l'anatomie générale et la physiologie de *Helix pomatia*. Notons que de nombreux travaux d'histologie et de biochimie ayant été effectués sur cette espèce, une bibliographie exhaustive couvrirait plusieurs pages.

## III - POLYMORPHISME

Il existe un certain polymorphisme anatomique (mâchoire, radula, appareil génital) et un polymorphisme de la coquille qui se traduit par :

- 1) la taille de la coquille,
- 2) sa forme,
- 3) l'épaisseur du test,
- 4) sa coloration et son ornementation.

### 1) TAILLE DES COQUILLES

Les mesures correspondent à la hauteur ou au diamètre des coquilles (cf. Agocsy, 1963).

- Taille *minor* = *parva* (Porro) M.T. : 34-39 mm.
- Taille *normalis* = 40-45 mm.
- Taille *major* = *grandis* (Menke) M.T. : 46-50 mm.
- Taille *gigas* = *gigantea* Porro : 51-55 mm.

### 2) FORMES DES COQUILLES :

#### A) FORMES NORMALES (cf. Meisenheimer, *supr. cit.*).

- Forme *vulgaris* Meis. = *sphaeralis* Meis. : diamètre égal ou peu différent de la hauteur. Synonymie - ? *H. gesneri* (Hart.) Loc.

- Forme *inflata* Meis. diamètre supérieur à la hauteur (ouverture oblongue, spire déprimée). Synonymie - ? *H. pyrgia* Bourg., = *H. segalaunica* Sayn.

- Forme *turrita* Meis. : hauteur supérieure au diamètre (spire haute). Synonymie - var. *acuminata* Baudon - *H. promaeca* Bourg. - *H. edmondi* Loc.

#### B) FORMES ANORMALES (cf. Bellevoye, 1904)

- Forme sénestre (1 cas sur 6000 dans la région de Genève vers 1850).
- Forme scalaire (*scolaris* Fér.) : tours très étagés (1 cas sur 9000).
- Forme *plagiostoma* Meis. = *bulimus* Bellev. : spire haute et tordue.
- Forme planorbale Bellev. : spire totalement déprimée.
- Forme *carinata* Bellev. : crête spirale, spire déprimée.

### 3) EPAISSEUR DU TEST

- Forme *tenuis* Baudon : coquille mince.
- Forme *ponderosa* Baudon : coquille lourde et épaisse.

### 4) COLORATION, ORNEMENTATION

- Variété *fasciata* Porro : bandes spirales (5 bandes maximum : var. *quinquefasciata*). On pourrait numéroter ces bandes comme on fait chez les *Cepaea*.

- Variété *brunnea* (Porro) M.T. : coquille brune sans bandes.

- Variété *albida* (Porro) M.T. : coquille blanche sans bandes.

L'allure générale d'une population (taille et forme des coquilles) peut être illustrée par un diagramme en portant pour chaque coquille, le diamètre en abscisse et la hauteur en ordonnée (Ant., 1957).

#### IV - BIOTOPES - ECOLOGIE - ETHOLOGIE

*Helix pomatia* semble être, à l'origine, une espèce du système alpin. Son biotope caractéristique est le sous-bois de montagne (altitude maximale = 2000 m).

Dans les régions basses l'Escargot de Bourgogne préfère les zones vallonnées à fruticées, les forêts claires et les bois de feuillus, le bocage non océanique, les plateaux calcaires parfois même assez steppiques. Les terrains les plus favorables à l'espèce sont des terrains calcaires à sol limoneux, meuble, un peu sec (ou un humus forestier non acide). Des terrains acides, argileux, marécageux ne lui conviennent pas. En montagne l'espèce peut se rencontrer aussi sur les terrains volcaniques (Agocsy, *supr. cit.*). Le climat méditerranéen côtier ne paraît pas lui convenir. Seules exceptions : l'espèce m'a été signalée près de Montpellier et de Cagnes-sur-Mer.

En période de sécheresse, *Helix pomatia* se met en estivation. Une période d'estivation trop longue est létale; mais aussi une humidité continuelle (Nawratil, 1969). La période d'hibernation durant laquelle l'Escargot est operculé, varie selon les conditions climatiques de la région ou de l'année. Elle débute fin septembre à début novembre et se termine en mars-avril. Yung (1903 1911) a procédé à des expériences sur la perception de l'animal. Frömming (1954) a noté les plantes préférentielles consommées expérimentalement par *Helix pomatia*.

#### V - CYCLE BIOLOGIQUE

Nous ne possédons actuellement que des données qualitatives parfois imprécises sur le cycle de l'Escargot de Bourgogne, sa croissance, sa sexualité, sa fécondité et sur la dynamique des populations naturelles. D'après les observations que nous avons effectuées avec M. Vinitzky sur des animaux mis en élevage dans des parcs et dans des terrariums, dans la région parisienne, durant l'année 1972, la période de reproduction s'étale d'avril à août. Les accouplements ont eu lieu d'avril à juillet (inclus), les pontes à partir du 15 juin jusqu'en août (inclus). Les éclosions se sont produites en août et au début de septembre. Selon B. Pinel (*comm. pers.*) la durée d'incubation des œufs est de 17 jours à 18 - 22°C. D'après la littérature un animal ne pond, en général, qu'une fois dans l'année de 30 à 60 œufs. L'accouplement est réciproque aux yeux des biologistes mais des éleveurs ont affirmé l'existence de "mâles" et de "femelles" fonctionnels (Jutting, 1952). Si cette observation est exacte on peut supposer une stérilité mâle ou femelle chez certains animaux (hermaphrodisme successif occasionnel ?).

*Helix pomatia* semble atteindre, dans les conditions les plus favorables, le stade adulte à l'âge de 2 ans 1/2 - 3 ans. Il vit 6-7 ans, mais il peut parvenir à l'âge de 10 ans et plus selon certains auteurs. Il est fort probable que la croissance, la durée de vie et la taille de l'espèce varie, pour chaque population, selon les conditions du milieu.

#### VI - IMPORTANCE ECONOMIQUE - PROTECTION DE L'ESPECE - PERSPECTIVES D'ELEVAGE

*Helix pomatia* est dégusté depuis l'époque romaine. La France est actuellement premier pays consommateur. L'espèce, en outre, est largement utilisée pour la recherche biologique, pour l'enseignement zoologique et pour la recherche médicale (Immunohématologie principalement). Elle doit donc être d'une part protégée dans la nature, d'autre part étudiée sur le plan écologique afin qu'un élevage productif puisse être réalisé.

Les Escargots de Bourgogne récoltés en France ne suffisent en effet pas aux besoins nationaux. La France importe des *Helix pomatia* d'Allemagne Fédérale, de Hongrie, de Pologne et d'Autriche. La Yougoslavie, l'Albanie et la Grèce sont aussi des pays producteurs d'*Helix* de diverses espèces. Enfin, la Turquie, le Liban et la Syrie exportent en France des Escargots appartenant à d'autres espèces que *H. pomatia*. Il s'agit principalement de l'espèce *Helix lucorum* Linné et d'espèces du groupe *Helix edonensis* Kobelt.

La protection de l'espèce en France peut se faire de deux manières : soit en restreignant la période de ramassage (en Allemagne le ramassage est interdit de mars à juillet), soit en délimitant des "zones de repeuplement" dans laquelle le ramassage serait interdit pendant 6 années. Cette réglementation pourrait être décrétée par arrêtés municipaux. Les Réserves naturelles, les forêts domaniales, les Parcs nationaux et régionaux pourraient servir aussi de zones de repeuplement.

Durant le 19ème siècle et dans la première moitié de ce siècle on "élevait" l'Escargot de Bourgogne c'est-à-dire qu'on engraisait dans des parcs des Escargots récoltés dans la nature afin d'obtenir principalement en hiver, des Escargots "bouchés" qui avaient une plus grande valeur sur le marché. Ce genre d'élevage est décrit par Boisseau et Lanorville (1911), Jutting (1952) et Cadart (1955).

L'élevage productif (à partir des pontes) est actuellement à l'étude. Les premiers essais, à l'aide de terrariums ont été effectués et décrits par Hein (1952). L'expérience a été poursuivie en Allemagne et en Autriche. L'ouvrage de Nietske (1963) étudie les perspectives d'un tel élevage. Nawratil (*supr. cit.*) indique que des épidémies, dont l'agent n'a pas pu être décelé, peuvent décimer les animaux dans les élevages et dans la nature. L'élevage productif rationnel nécessiterait donc des connaissances sur l'éthologie, le cycle reproducteur et les maladies de l'espèce, connaissances plus approfondies que celles dont on dispose actuellement. On pourrait aussi envisager la production de *Helix pomatia* d'une façon semi-naturelle en introduisant des animaux dans un vaste terrain clôturé offrant le biotope convenable à l'espèce (comme le firent sans doute les Romains et les Moines).

## VII - DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE

Distribution hors de France : Tchécoslovaquie, Autriche, Suisse, Allemagne (surtout méridionale), Pologne, Hongrie, Roumanie (surtout les Carpates), la partie Est de la Yougoslavie, la partie Nord de la Bulgarie, la Russie occidentale (jusqu'à Riga, Minsk et Kiev), le Sud du Danemark, l'extrême Sud de la Suède, le S.E. de l'Angleterre, les Ardennes en Belgique, le Luxembourg, le Limbourg et la Frise aux Pays-Bas, les Alpes italiennes. Introduction aux Etats-Unis : Michigan, Wisconsin.

En France l'espèce devait exister à l'Holocène, tout au moins dans les Alpes et le Jura. Sa propagation a été accrue par l'Homme pendant les temps historiques (Romains dans l'Antiquité, religieux au Moyen-Age). Les limites occidentales de l'espèce sont le Calvados, l'Orne, la Sarthe, l'Angoumois et la vallée de la Garonne. Dès le siècle dernier les malacologistes ont signalé la raréfaction de l'Escargot de Bourgogne dans plusieurs régions de France.

Les pesticides (exemple de sulfatage de la vigne en Bourgogne), les feux de broussaille, les déboisements, les engrais et surtout le ramassage non réglementé sont les causes de la raréfaction et parfois de la disparition totale de l'espèce. Les données postérieures à 1950 qui figurent sur la carte de répartition, sont sans doute insuffisantes. On voit néanmoins que l'espèce est encore assez abondante dans certaines régions des Alpes, du Jura, de l'Alsace, de la Champagne, du Puy-de-Dôme. Elle est encore présente dans la région parisienne, la Somme, la vallée moyenne de la Loire, la Bourgogne, le Lot, l'Aveyron. Peut-être existe-t-elle dans la Dordogne et le Tarn. Dans le Gers, j'en ai récolté un test. L'Escargot de Bourgogne n'a jamais été signalé dans la Manche, en Bretagne, en Vendée, en Gironde, dans les Landes, dans les Pyrénées, dans le Roussillon et dans la basse Provence. Il fut signalé autrefois près de Poitiers et en Charente-Maritime. P. CALAS me le signale dans le Sud de la Vienne (Chatain, comm. de Charroux : *rec.* 1961).

Je remercie vivement les nombreuses personnes, collègues et amis qui ont contribué à cette enquête, en me fournissant des informations, en m'adressant des documents ou en m'apportant diverse aide matérielle : Dr van ALTENA, M. J. ANDRE, Dr. H. ANT, M. P. CALAS, Mme S. CHEVALLIER, Dr. H. COIFFAIT, MM. C. DEVES, L. DUBERNET, P. DUFOURNET, L. de L'EPREVIER, Dr. D. GODAN, M. F. J. JUNGWIRTH, Dr. R. KILIAS, M. M. V. LECOMTE, P. LE GALL, G. LEMAITRE, Mlle E. MAKOWSKY, M. B. METIVIER, Mme R. POTHIER, MM. M. VINTZKY, B. VUATRIN, Mme C. WYSOCZANSKI et la Commission Faunistique Continentale de la Société Française de Malacologie.

\* \* \* \*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AGOCSEY P., 1963. The examination of some edible snail (*Helix pomatia* L.) populations (Mollusca). *Ann. hist. nat. Mus. hung.*, 55, p. 513-520.
- ANT H., 1957. - Die Weinbergschnecke in Westfalen, *Natur u. Heimat Münster*, 17 (4), p. 104-108.
- BELLEVOYE A., 1908. - Les variétés de l'*Helix Pomatia*. *Bull. Soc. Etud. Sc. Nat. Reims*, 12, p. 89-96, 1 pl.
- BOISSEAU G. et LANORVILLE G., 1911. - L'escargot. Elevage et parage lucratifs. Préparation culinaire et vente, *Hachette édit.*, Paris, 96 p., 24 pl.
- CADART J., 1955. - Les Escargots (*Helix Pomatia* L. et *Helix Aspersa* M.) Biologie - Elevage - Parage - Histoire - Gastronomie - Commerce. *Lechevalier édit.*, Paris, 420 p.
- FROMING E., 1954. - Biologie der mitteleuropäischen Landgastropoden. *Duncker et Humblot édit.*, Berlin, 404 p.
- HEIN G., 1952. - Die Weinbergschnecke (*Helix pomatia* L.) Lebensweise, Zerbrauch, Handel und Zucht, *Zeitsch. für Hygien. Zool. et Schädlingb.*, Berlin, 40 (8-9), p. 225-248.
- HEIN G. (1957 ?). - voir KAUFMANN.
- HESSE P., 1920. - Genus *Helix* L. s. str. in : E. A. ROSSMASSLER, Iconographie der Land et Süßwasser - Mollusken, *Kreidel édit.*, Berlin et Wiesbaden, N. F., 23 (5-6), p. 115 - 260, pl. 617-660.
- JUTTING W. S. S. van B., 1952. - A Snail farm in the Netherlands, *Basteria*, Leyde, 16 (1-2), p. 25-30, pl. 2.
- KAUFMANN G., non daté (- G. HEIN) - Die Weinbergschnecke Ihre Zucht und Mast. *Philler édit.*, Minden, *Lehrmeister-Bücherei* n° 313, 32 p.
- LILIAS R., 1960. - Weinbergschnecken. Ein Überblick über ihre Biologie und wirtschaftliche Bedeutung, *VEB Deutsch Verl. Wissensch. édit.*, Berlin, 94 p.
- MEISENHEIMER J., 1912. - Die Weinbergschnecke *Helix pomatia* L. *Monogr. Einh. Tiere*, Leipzig, 4, 140 p., 1 pl. couleurs.
- NAWRATIL O., 1969. - Problem der Massenvermehrung von *Helix pomatia* L. (Weinbergschnecken). *Malacologia*, Vienne et Ann Arbor, 9 (1), p. 135-141.
- NIETZKE G., 1963. - Die Weinbergschnecke. Lebensweise, Mast, Zucht, Verkauf, Zubereitung, *E. Ulmer édit.*, Stuttgart, 163 p.
- YUNG E., 1887. - Contribution à l'histoire physiologique de l'escargot (*Helix pomatia*). *Hayez édit.*, Bruxelles, 119 p., 2 pl. (extrait des *Mém. Cour. et Mém. Savants étr.*, 49).
- YUNG E., 1903. - Recherches sur le sens olfactif de l'escargot (*Helix pomatia*), *Arch. Psycho.*, Genève, 3 (9), p. 1-80.
- YUNG E., 1911. - De l'insensibilité à la lumière et de la cécité de l'escargot (*Helix pomatia*). *Ibid.*, 11 (44), p. 305-330.



Fig. 1 Preludes d'accouplement de l'Escargot de Bourgogne photo Col. Vinitzky).

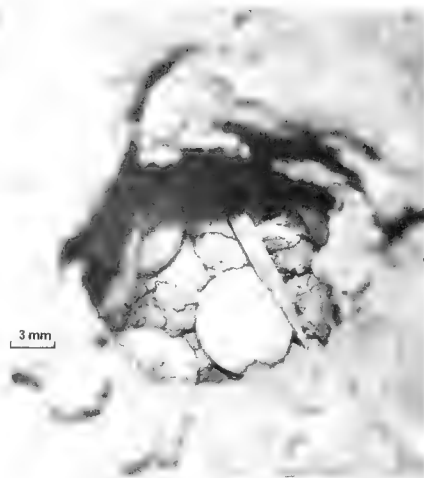


Fig. 2 Oeufs de *Helix pomatia* dans le trou de ponte creusé par l'Escargot dans la terre (photo Col. Vinitzky).

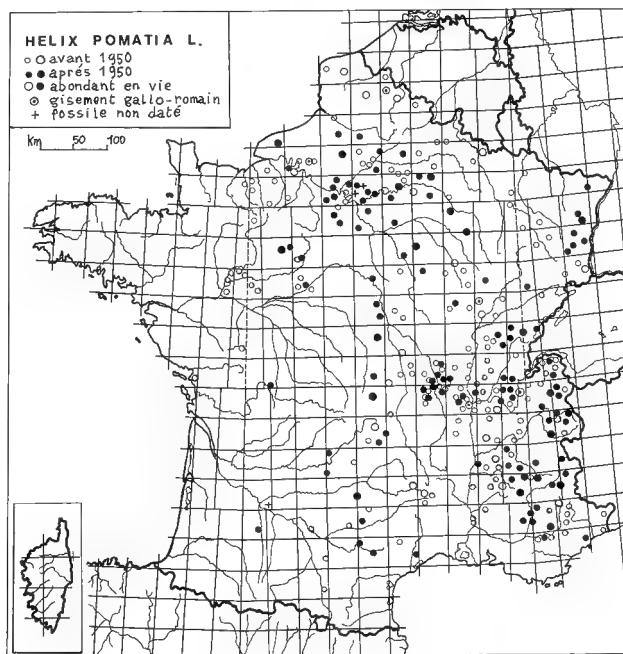


## LEGENDE DES FIGURES

Fig. 1 : Préludes d'accouplement de l'Escargot de Bourgogne (photo Coll. Vinitzky).

Fig. 2 : Oeufs de *Helix pomatia* dans le trou de ponte creusé par l'Escargot dans la terre (photo Coll. Vinitzky).

Fig. 3 : Répartition en France de *Helix pomatia*.





## TECHNIQUE DE PRODUCTION DES METACERCAIRES

par S. SEVO (1)

### RESUME

La production massive des métacercaires de *Fasciola hepatica* Linné est obtenue en laboratoire par l'infestation artificielle de *Lymnaea truncatula* Muller élevé sur des substrats boueux.

Il importe de préparer soigneusement ces substrats à partir de terre stérilisée, humectée au moyen d'une suspension d'algues. Cette terre est à maintenir en état de saturation d'eau dans une chambre fortement éclairée et maintenue à 25° C. Les limnées sont transférées journallement sur de nouveaux substrats préparés 24 heures auparavant.

L'infestation artificielle des *Lymnaea truncatula* s'effectue sur des individus dont la hauteur de la coquille mesure entre 3 et 5 mm. Il suffit d'immerger les limnées en présence des œufs de la Douve arrivés au terme de leur incubation à l'obscurité et l'éclosion de la larve aliée du Trématode est immédiate sous l'effet de la lumière. Les limnées sont enlevées dès qu'elles sont infestées par 4 (ou 6) miracidies et sont mis en quarantaine pendant 23 jours sur les substrats d'élevage. Au terme de cette période, les limnées porteuses de cercaires sont transférées dans des boîtes de Petri renfermant de l'eau et des algues en suspension ; elles y sont tenues en observation pendant toute la période d'émission des cercaires. Les métacercaires sont récoltés sur des feuilles de plastic placées dans le fond des boîtes de Petri.

### SUMMARY

Artificial contamination of *Lymnaea truncatula* Muller raised on muddy substrates has proved to be an efficient way for the massive production of metacercariae of *Fasciola hepatica* Linné in the lab.

Careful preparation of these substrates is of paramount importance ; this is carried out with a sterilized soil saturated with an algae suspension and kept at 25° C in an lighted growth chamber. Limnaea are transferred daily on new substrate prepared the day before.

Artificial contamination of *Lymnaea truncatula* is carried out with molluscs having a 3 - to 5 - mm shell ; these are immersed in presence of mature liver fluke eggs which will hatch immediately when brought to light.

The limnaea are removed as soon as they are contaminated by four miracidiae and are quarantined during a 23 - day period on the rearing substrates. At the end of this period the cercariae - infected limnaea are transferred into Petri dishes containing an algae water suspension and are observed on the look - out during the cercariae - emission period.

(1) Groupe de Travail pour l'Etude de la Lutte contre les Limnées (Ministère de l'Agriculture). Président : Professeur W.E. van den Bruel. Faculté des Sciences Agronomiques de l'Etat, 5800 Gembloux - Belgique.

The metacercariae are collected on plastic sheats placed on the bottom of the Petri dishes.

\* \* \* \*

Les traitements molluscicides et autres destinés à éliminer les populations de *Lymnaea truncatula* Muller (1774) dans les terres réservées à l'élevage mettent les bêtes sujettes à la fasciole à l'abri des atteintes de la parasitose pour autant qu'il ne subsiste dans le milieu aucune métacercarie infestante. Des métacercaries peuvent exister dans les prairies en nombre plus ou moins élevé. Elles peuvent être plus ou moins anciennes, l'être constituées en des saisons différentes. Sont-elles encore vraiment dangereuses pour le jeune bétail amené sur le pré ? L'état encore relativement imprécis des connaissances quant à l'effet des facteurs écologiques sur les stades larvaires de la Grande Douve du foie compromet l'établissement de programmes d'intervention préventive aux effets utiles suffisamment assurés. Il en est notamment ainsi : 1° pour la longévité en milieu naturel des métacercaries infestantes et 2° pour le degré d'accessibilité par l'hôte définitif, en toute saison, des métacercaries encore instantes dispersées dans les divers éléments constitutifs du milieu.

Il était primordial de disposer à volonté d'un nombre élevé des métacercaries d'âge connu, obtenus dans des conditions contrôlées, pour mener les études requises, spécialement pour définir l'influence des facteurs externes sur la viabilité des métacercaries.

Boray a étudié ce problème en Australie. Il a mis au point une technique très précise de production de métacercaries par infestation artificielle de *Lymnaea tomentosa* Pfeiffer (1855), hôte intermédiaire de *Fasciola hepatica* Linné (1758), sur ce continent.

Ollerenshaw a développé de son côté la production de métacercaries à partir de *Lymnaea truncatula*.

Le développement des recherches expérimentales nous a de même obligé de mettre au point une technique de production en laboratoire de métacercaries basée sur l'infestation contrôlée de *Lymnaea truncatula*. La technique en question a répondu pleinement à notre attente, elle nous a permis de disposer pour les expériences, au moment requis et sous une forme très maniable, de la masse de métacercaries instantes d'âge connu dont nous avons besoin.

#### ELEVAGE DE LYMNAEA TRUNCATULA

Avant d'entreprendre la production massive de métacercaries, il est indispensable de disposer d'une souche solide de *Lymnaea truncatula* parfaitement adaptée aux conditions du laboratoire.

Nous utilisons depuis plusieurs années, sans difficulté particulière, une méthode d'élevage de *Lymnaea truncatula* simple, adaptée à nos conditions de travail. Elle repose sur l'emploi d'un substrat boueux ensemencé des algues nécessaires pour assurer l'alimentation et la croissance normale du mollusque.

Le matériel de base requis consiste en terrines en poterie mesurant 0,25 m de côté. Le fond comporte d'origine quatre orifices (Fig. 1), lesquels sont pourvus par nos soins d'une capsule en matière plastique percée de multiples petits trous (Fig. 2). Ce dispositif permet de retenir la terre tout en livrant libre passage à l'eau lorsque la terrine est partiellement immergée. Ces capsules sont amovibles, ce qui facilite le nettoyage entre deux opérations successives.

Le matériel est complété par des cuvettes (Fig. 3) destinées à recevoir la terrine correspondante (dimensions 0,30 x 0,30 m). Les terrines seront posées sur trois supports qui les maintiendront à une courte distance du fond des cuvettes.

L'ensemble du dispositif d'élevage est placé dans une chambre climatisée (25° C) pourvue d'un fort éclairage (batterie de tubes fluorescents disposée à une hauteur réglable au-dessus des terrines).

Le restant du matériel requis est constitué :

1°) par de la terre prélevée dans le voisinage et stérilisée au préalable (125° C pendant 24 heures) ;

2°) par des algues sauvages prélevées dans les gîtes à *Limnées* : bords des fossés, mares prairies humides (lors d'un contrôle sur la nature de la nourriture fournie aux *Lymnaea truncatula*, il a été constaté que l'algue utilisée appartenait au genre *Palmeilla* Lingbye, de la famille des Plamellacées et de l'ordre des Chlorococcales.

La technique d'élevage est dès lors la suivante :

1 - Garnir le fond des terrines d'une couche de terre stérilisée épaisse de 5 cm (Fig. 5).

2 - Humecter abondamment cette terre au moyen d'une suspension d'algues obtenue par dispersion d'algues récoltées dans les gîtes à *Limnées* (Fig. 4 et 5).

3 - Egaliser avec soins la surface des terres boueuses pour favoriser le développement des algues et faciliter l'observation des *Limnées*.

4 - Nettoyer rigoureusement les bords des terrines pour empêcher la fuite ultérieure des *Limnées* (lesquelles ne grimpent pas sur la poterie dépourvue de dépôt terreux).

5 - Poser les terrines ainsi préparées sur les supports dans les cuvettes.

6 - Garnir les cuvettes d'eau fraîche jusqu'à la hauteur de la surface de la terre dans les terrines.

7 - Exposer le dispositif décrit dans l'enceinte fortement éclairée et maintenue à 25° C. La surface de la boue est couverte après 24 heures d'une couche d'algues vertes. Le milieu ainsi créé est très favorable à l'élevage de *Lymnaea truncatula*.

8 - Déposer dans chaque terrine trente à cinquante *Lymnaea truncatula* adultes.

9 - Transférer journellement les *Limnées* sur de nouveaux substrats préparés selon la méthode décrite. Prélever les pontes du mollusque et les placer sur papier filtre humide dans des boîtes de Pétri conservées dans la chambre conditionnée.

10 - L'eau qui baigne les terrines est remplacée chaque jour par de l'eau fraîche.

11 - La méthode permet donc de disposer à volonté des *Limnées* d'âge connu. Celles dont la coquille mesure 3 à 5 mm conviennent le mieux pour procéder à l'infestation artificielle par les miracidia. Elles sont âgées de deux à trois semaines dans les conditions d'élevage décrites.

## PRODUCTION DES METACERCAIRES

1°) Les œufs de *Fasciola hepatica* proviennent de la bile recueillie à l'état frais à l'abattoir. Ils sont enfermés dans des tubes garnis d'eau et enveloppés de papier noir opaque. Ils sont maintenus dans cette situation pendant au moins 13 à 14 jours à 25° C.

La larve du Trématode est prête à éclore après ce terme de 13 jours d'incubation : il suffit que l'œuf soit exposé à la lumière pour que la miracidia se dégage.

2°) Les *Limnées* destinées à être infestées par les miracidia sont triées puis débarrassées des dépôts organiques fixés sur la coquille. Elles sont ensuite immergées isolément dans la petite quantité d'eau déposée dans des salières.

3°) Quatre ou six œufs de *Fasciola hepatica*, prêts à éclore, sont comptés et déposés dans des salières, leur éclosion est immédiate sous l'effet de la lumière.

Les miracidia se fixent très rapidement sur les téguments de la partie antérieure du corps de l'animal. Les événements sont surveillés avec attention à l'aide d'un équipement d'optique adéquat afin de retirer la *Limnée* dès que 4 à 6 larves du Trématode sont fixées sur la victime.

4°) Les *Limnées* infestées sont ensuite mises en élevage selon la méthode décrite. A 25° C, il faut 23 à 25 jours au parasite pour parfaire son cycle de développement au sein du mollusque.

5°) A partir du vingt-quatrième jour, les *Limnées* porteuses de Trématodes sont transférées dans des boîtes de Pétri dont le fond est garni d'une feuille de matière plastique. La boîte de Pétri renferme de l'eau pour accueillir les cercaires s'échappant du mollusque. Des algues sont ajoutées à l'eau si les cercaires tardent à se libérer. Cela permet à la *Limnée* de se nourrir si l'attente se prolonge.

6°) Les cercaires se fixent aussitôt après leur libération sur la feuille en matière plastique qui couvre le fond de la boîte de Pétri et elles se transforment en métacercaires.

Il suffit de retirer la feuille en matière plastique 24 heures plus tard, de la laver délicatement : l'on dispose dès lors d'un nombre défini de métacercaires d'âge connu, adhérant à un support aisément maniable.

Le produit de l'opération se prête sans difficulté à des manipulations. Il peut être réparti en nombre déterminé de métacercaires en vue de les exposer en différents milieux pendant des durées définies. Le degré de persistance de la viabilité de la métacercaire peut être ainsi observé de façon précise pour diverses situations.

L'on peut aussi travailler avec des métacercaires décollés, manipulés à volonté, procédé qui se prête sans peine à des essais d'infestation contrôlée sur des animaux - tests.

\* \* \* \*

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BORAY, J. C., 1969. - Experimental Fasciolosis in Australia. *Advances in Parasitology*. Academic Press édit., London, p. 95-210.
- OLLERENSHAW, C. B., 1967. - Communication personnelle.



Fig. 4.- Dispersion des algues "sauvages"  
effectuée pour faciliter leur  
prolifération.

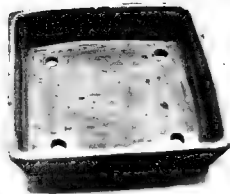


Fig. 1.- Terrine en terre cuite  
pourvue de 4 trous d'origine  
pour le passage de l'eau.

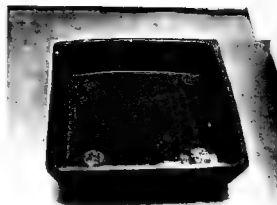


Fig. 2.- Canicules en matière plastique  
mises en place pour retenir  
la terre meuble.



Fig. 5.- Inoculation de la terre par les algues.

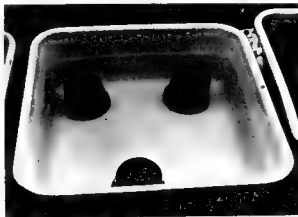


Fig. 3.- Cavette et supports  
pour terrine.





## LA REGLEMENTATION FRANCAISE RELATIVE AUX CONSERVES D'ESCARGOTS

Qualité de la matière première utilisée

par B. VUATRIN (1)

L'industrie française de la conserve traite chaque année, des tonnages importants d'escargots (4500 t. de conserves fabriquées en 1971). Elle utilise en outre une petite production nationale, une matière première importée, notamment d'Allemagne, d'Europe centrale, des pays britanniques et depuis peu, de Turquie, d'Asie.

Ladite matière première peut se présenter sous les 2 formes suivantes :

- escargots vivants, placés dans des caisses à claire voie, pour voyager et entreposés ensuite dans les chambres froides des usines,
- escargots surgelés après décoquillage.

Pour que leur parvienne une marchandise de qualité, les professionnels de la conserve ont rédigé la norme suivante, qu'ils imposent à leurs fournisseurs étrangers.

Cette norme d'agrégation, destinée à permettre l'établissement des contrats de livraison de chair d'escargots surgelés ainsi que des coquilles prévoit les opérations suivantes :

### CHAIR .

- Prélavage des escargots en coquilles avant l'ébouillantage.
  - Salage et ébouillantage.
  - Décoquillage avec fourchettes spéciales de type "française".
  - Coupage de l'hépatopancréas à l'aide de ciseaux de façon à l'éliminer convenablement.
- L'escargot doit être entier naturellement sans extension.
- Cuisson dans l'eau bouillante et pendant 25 minutes à partir du moment où l'eau recommence à bouillir.
  - Refroidissement immédiat dans un courant d'eau froide pendant 15 minutes maximum.
  - Egouttage sur tamis à mailles de 1 cm minimum et pendant 15 minutes minimum. La hauteur de la couche d'escargots placés sur le tamis ne devra pas être supérieure à 10 cm.

### CALIBRAGE .

- Les escargots dont le poids unitaire, après ces opérations, est inférieur à 3 g. et ceux dont le poids unitaire est supérieur à 9 gr. ne sont pas commercialisables et, de ce fait, doivent être éliminés. Ne garder que les escargots de poids unitaire de 3 à 9 g. mais la production d'escargots de poids unitaire compris entre 7 et g. ne devra pas être supérieure à 15 %.

---

(1) Ingénieur agronome, Directeur Général du Centre Technique des Conserves de Produits Agricoles, 71, avenue du Général Leclerc, PARIS, 14e.

Mise en sacs plastique de 5 kg net. Ces sacs seront mis en caissettes non marquées.

Dans le cas où les escargots dont le poids unitaire inférieur à 3 g. et supérieur à 9 g. n'auront pas été détruits, les caissettes contenant les sacs remplis avec ces escargots devront être marquées d'une façon distincte :

- en noir pour les escargots de poids unitaire inférieur à 3 g. ;
- en rouge pour ceux dont le poids unitaire est supérieur à 9 g.

La surgélation des escargots doit intervenir au maximum 4 heures après la cuisson.

- COQUILLES .

Les coquilles devront avoir un diamètre minimum de 33 mm. Elles seront parfaitement nettoyées puis égouttées. Elles ne devront être ni cassées, ni percées. Les coquilles plates ou à petite ouverture seront exclues.

- QUALITE DES CONSERVES PREPAREES :

Par ailleurs, le Centre Technique des Conserve de Produits agricoles a fait homologuer par le Ministre de l'Agriculture, la décision n° 45 (dont le texte figure en annexe à la présente note). Ce document constitue une codification des usages professionnels en la matière. A ce titre, les tribunaux français se servent des références qu'il contient en cas de litige.

Un texte réglementaire dont l'application n'est pas contrôlée demeure lettre morte. Pour éviter un tel écueil, le C.T.C.A. fait visiter par ses inspecteurs, les usines concernées durant la période de fabrication des conserves d'escargots. Lesdits inspecteurs surveillent notamment la qualité des matières premières mises en œuvre, l'hygiène des locaux, du personnel et du matériel, les techniques de fabrication. Ils ouvrent des boîtes pour contrôler les qualités organoleptiques de la conserve, le calibrage des escargots et le remplissage des récipients. Un inspecteur, appointé par les conserveries françaises, veille au respect de cette réglementation dans les ateliers turcs de préparation des escargots surgelés, durant la campagne de travail.

D'autres boîtes (non ouvertes, bien entendu) signées par les inspecteurs, sont adressées pour être analysées dans les laboratoires de l'Institut Appert. Les conserveries reçoivent du C.T.C.A., des bulletins d'analyses établis par lesdits laboratoires. Ces documents comportent notamment les résultats d'une épreuve de stérilité (basée sur une incubation effectuée en étude à 37°C. et à 55°C.), d'un contrôle de calibrage et du remplissage, et, le cas échéant, d'un examen bactériologique.

Pour les usines, ces bulletins constituent une source de précieux renseignements. Ils permettent éventuellement aux inspecteurs du C.T.C.A., de donner des conseils basés sur des constatations précises.

ANNEXE :  
Règlementation qualitative  
DECISION N° 45 du 22 mai 1958

CONSERVES D'ESCARGOTS SANS COQUILLE

(EXTRAITS ET RESUME)

TITRE I  
DEFINITION

Article premier. - Les conserves alimentaires dénommées "Escargots" doivent être conformes aux critères ci-après et préparées à partir d'escargots du genre *Hélix*, débarrassés de leur coquille, et d'eau ou d'une sauce appropriée, avec addition facultative de sel (chlorure de sodium), d'épices et d'aromates.

Article 2. - a) La dénomination "Escargots de Bourgogne" est réservée aux conserves préparées exclusivement avec des escargots de l'espèce *Hélix pomatia* Linné.

Les conserves préparées avec cette espèce peuvent également porter la dénomination "Escargots" accompagnée de la mention "préparée en... (telle région)".

b) Les conserves préparées avec des escargots de l'espèce *Hélix aspersa* Muller doivent être dénommées "Escargots Petits Gris" ; cette dénomination peut être accompagnée de la mention "préparés en... (telle région)".

c) Les conserves préparées avec d'autres espèces comestibles du genre *Hélix* doivent être dénommées "Escargots" , cette dénomination peut être accompagnée de la mention "préparés en... (telle région)".

Article 3. - a) La désignation "au naturel" est réservée aux conserves constituées d'escargots et d'eau et comportant ou non l'addition de sel, d'épices et d'aromates. Elle peut être mentionnée sur l'étiquette.

b) Tout mode de préparation autre qu'au naturel doit être indiqué sur l'étiquette par une mention appropriée.

Le titre II indique :

- a) les caractéristiques de la matière première,
- b) les caractéristiques générales du produit.

Le titre III indique les caractères de qualité.

Le titre IV se rapporte au déclassement.

Le titre V se rapporte à l'étiquetage.

Le titre VI se rapporte à la méthode d'examen.

Une annexe indique le mode opératoire à suivre pour l'examen des conserves d'escargots.

N.B. : Les articles de la décision n° 45 peuvent être légèrement modifiés par des circulaires émanant du C.T.C.P.A.



## CARTOGRAPHIE DES MOLLUSQUES CONTINENTAUX ACTUELS DE LA FRANCE

par H. CHEVALLIER, V. LECOMTE, A. LUCAS, G. RÉAL

### RÉSUMÉ

La société française de malacologie a entrepris un recensement des mollusques continentaux vivant en France. Pour chaque espèce un article sera publié comprenant sa taxinomie, son écologie, sa biogéographie et sa répartition portée sur une carte. La cartographie sera faite en utilisant les méthodes proposées par l'European Invertebrate Survey et déjà appliquées par les malacologistes de la Conchological Society of Great Britain and Ireland.

### SUMMARY

Cartography of the present continental Molluscs of France. The French Malacological Society has undertaken a Census of the present continental Molluscs living in France. For each species an article will be published including taxonomical, ecological and biogeographical data plus a distribution map. The cartography will make use of the methods proposed by the European Invertebrate Survey and already applied in malacology by the Conchological Society of Great-Britain and Ireland (Kerney and Morton, 1970 - Kerney, 1970, 1972).

\* \* \* \*

### I - BUTS DU PROJET FAUNISTIQUE

Ainsi que l'a souligné l'un d'entre nous (Chevallier, 1971) il s'avère nécessaire de publier des mises au point taxonomiques et faunistiques en ce qui concerne les Mollusques continentaux actuels de la France.

Sur l'initiative de A. Lucas, la Société Française de Malacologie a favorisé la constitution de l'activité d'une "Commission Faunistique Continentale" ayant pour buts l'étude faunistique et biogéographique de ces Mollusques.

Cette Commission s'est réunie à cinq reprises de 1970 à 1972 : à Paris (mai 1970), Caen (septembre 1970), Lyon (mai 1971), Genève (septembre 1971) et Rouen (septembre 1972). Les malacologistes français suivants ont participé à ces réunions : Ph. Bouchet, H. Chevallier, J. C. Fischer, J. Gaillard, M. A. Guerrucci, V. Lecomte, A. Lucas, J. J. Puissegur, G. Réal, B. Salvat, F. Salvat, A. M. Testud, G. Truc et R. Vilain. Ces réunions ont permis d'évaluer les moyens dont pouvait disposer la Société Française de Malacologie pour réaliser un tel projet dans le cadre de la "Cartographie des Invertébrés Européens" ("European Invertebrate Survey") dont les objectifs ont été définis par J. Leclercq (1970) et J. Heath (1971).

A la suite de ces trois années de travaux préparatoires de la Commission Faunistique, les directives générales ci-après ont été dégagées par les présents signataires.

## II - DIRECTIVES GENERALES POUR LA PRESENTATION ET LA CARTOGRAPHIE DES ESPECES

### A) INTERET ET LIMITES DU «CENSUS»

L'intérêt d'un tel "Census" est de présenter d'une façon condensée et illustrée les données fondamentales d'une espèce : systématique, écologie, répartition géographique en France.

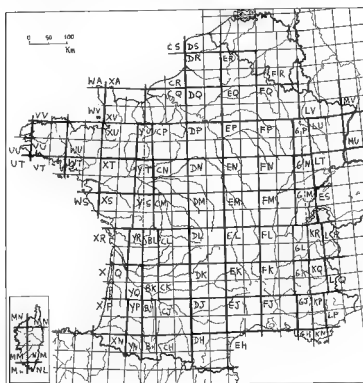
La cartographie de l'espèce ne peut offrir un intérêt réel que si cette carte est accompagnée d'un texte comportant des données bibliographiques, taxonomiques, écologiques et biogéographiques.

Il serait souhaitable que la carte de répartition puisse mettre en évidence certaines résultantes écologiques et biogéographiques : par exemple la relation entre la répartition de l'espèce et l'altitude, la pluviométrie, les isothermes, la végétation, les terrains, les sols, les zones urbaines, etc... (1). Ceci est difficilement réalisable sous peine de surcharger la carte et de la rendre illisible (ceci ne pourrait se faire qu'à l'aide d'un calque comportant ces indications). La carte de France utilisée pour cette cartographie comprendra néanmoins le réseau hydrographique.

Pour certaines espèces l'indice de forte abondance pourrait être indiqué par un signe plus gros que les autres à condition toutefois que l'auteur précise d'une façon quantitative ce qu'il entend par "abondant dans une station".

Les sous-espèces peuvent aussi être représentées sur la carte par des signes différents.

La carte de répartition peut conduire à des non-sens si certains protocoles ne sont pas définis. La carte ne peut être significative que si son auteur a collationné un nombre de données suffisantes et provenant de toutes les parties de la France. La carte ne pouvant pas préciser les régions où la prospection a été négative ainsi que les régions non prospectées, l'auteur devra faire mention de ces indications dans le texte.



LEGENDE DE LA FIGURE

Quadrillage UTM de la France et cotation des secteurs de 100 km de côté (secteurs divisés en 4 sous-secteurs NW-NE-SW-SE)

### B - METHODES DE CARTOGRAPHIE

La cartographie choisie est celle utilisée par l'European Invertebrate Survey : cartes s'appuyant sur le quadrillage UTM (Universal Transverse Mercator). La carte UTM de la France au 1/100 000 comprend 94 secteurs (en principe des carrés de 100 km de côté et dessinés par deux lettres) ; chaque secteur UTM de 100 km se subdivisent en 4 secteurs de 50 km. Ce quadrillage UTM figure sur l'édition militaire des cartes au 1/100 000 et au 1/50 000 éditées par l'Institut Géographique National (2, avenue Pasteur, 94 - Saint-Mandé, France).

Le système de signes conventionnels désignant la présence de l'espèce dans une station sera celui adopté par la Conchological Society of G.B. et Ireland pour le nouveau "Census" des Mollusques des Iles Britanniques (Kerney et Morton, 1970; Kerney 1970, 1972), c'est-à-dire :

- points noirs = signalé après 1950,
- cercles = signalé avant 1950,
- croix = fossile postglaciaire.

(1) Pour établir ces correspondances on peut se servir des Cartes de la végétation de la France au 1/200 000 : 66 cartes prévues dont 30 éditées en 1972 (Service de la carte de la végétation, C.N.R.S., 29, rue Jeanne-Marvis, 31 - Toulouse).

Certains autres signes peuvent être dans certains cas, ajoutés. On peut préciser que l'espèce signalée avant 1950, été retrouvée après dans la même localité en accolant un point noir et un cercle. Pour certaines espèces une cartographie régionale (toujours avec le quadrillage UTM) pourra être effectuée.

#### C) TEXTE ACCOMPAGNANT LA CARTE

Le texte devra comprendre si possible les chapitres suivants :

1 - Position systématique de l'espèce : classe, sous-classe, infra-classe, ordre, sous-ordre, superfamille, famille. On adoptera pour les Gastéropodes la classification de Taylor et Dohl (1962), celle de Vokes (1967) pour les Bivalves. Au-dessous de la famille (sous-famille, genre, sous-genre) on s'inspirera des dernières monographies sur les Mollusques européens : Germain (1930-31), W. Adam (1960), Zilch et Jaeckel (1962), Forcart (1965), Gittenberger, Backhuys et Ripken (1970). Les synonymies seront indiquées.

#### 2) ICONOGRAPHIE ET SYNONYMIE

Principales références iconographiques et synonymiques de l'espèce. La nature de l'illustration sera indiquée entre parenthèses (coquille, génitalia, radula, animal vivant, etc...). Dans le cadre de cette Faune les figures et les travaux d'anatomie non taxonomique ne seront pas mentionnées.

#### 3) POLYMORPHISME (OU POLYCHROMISME) :

Liste et définition des variétés et des sous-espèces reconnues en France.

#### 4) ECOLOGIE :

Quelques mots sur les biotopes particuliers à l'espèce et sur son écologie. Eventuellement impact économique de l'espèce.

#### 5) CYCLE BIOLOGIQUE :

Quelques mots sur les caractéristiques du cycle : période reproductive, nombre d'œufs pondus, modalités de la croissance, durée de vie...

#### 6) DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE :

Quelques mots sur la distribution générale de l'espèce. Conclusions sur sa répartition en France d'après la carte établie.

#### 7) REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

Principales références concernant la taxonomie, l'écologie, le cycle et la croissance, le polymorphisme, l'intérêt économique de l'espèce.

Pour la Commission Faunistique Continentale de la S.F.M.,

H. CHEVALLIER (Muséum Nat. Hist. Nat., Labo. de Biologie des Invertébrés marins et Malacologie, 55, rue Buffon, Paris 5e).

V. LECOMTE (I.N.R.A., Station de Zoologie Agricole, 16, rue Dufay, 76 - Rouen).

A. LUCAS (Faculté des Sciences, Labo. de Zoologie, Avenue Le Gorgeu, 39 N - Brest).

G. REAL (Institut de Biologie Marine, 2, rue du Professeur Jolyet, 33 - Arcachon).

\* \* \* \*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADAM W., 1960. - Faune de Belgique. Mollusques. I, Mollusques terrestres et dulciicoles. *Petr. Inst. Roy. Sc. Nat. Belg. édit.*, Bruxelles, 402 p., 163 fig., 4 pl. coul.
- CHEVALLIER H., 1971. - Inventaire des Mollusques continentaux actuels de la France. *Haliotis*, Brest, 1, p. 57-58.
- FORCART L., 1965. Rezente Land-und Süßwassermollusken der Südtalienenischen Landschaften Apulien, Basilicata und Calabrien. *Verhandl. Naturf. Ges. Basel*, 78, p. 59-184.
- GERMAIN L., 1930-1931. - Faune de France, 21, 22. Mollusques terrestres et fluviatiles. *Lechevalier édit.*, Paris, 2 vol., 897 + XIX p., 860 fig., 26 pl. (615 fig.) (en reprint : *Kraus Reprint édit.*, Nendeln, Liechtenstein).
- GITTENBERGER E., BACKHUYS W. et RIPKEN Th. E. J., 1970. - De Landslakken van Nederland *Kon Ned. Nat. Veren. édit.*, Amsterdam, 177 p., 87 fig.
- HEATH J., 1971. - European Invertebrate Survey. Instructions for recorders. *Bio. Rec. Centre, Monks Wood Exp. Stat. édit.*, 23 p., 15 fig.
- KERNEY M.P., 1970. - The british distributions of *Monacha cantiana* (Montagu) and *Monacha cartusiana* (Müller). *J. of Conch.*, 27, p. 145-148, 2 cartes.
- KERNEY M.P., 1972. - The british distribution of *Pomatia elegans* (Müller), *Ibid*, p. 359-361, 1 carte.
- KERNEY M.P. et MORTON B.S., 1970. - The distribution of *Dreissena polymorpha* (Pallas) in Britain, *Ibid*, p. 97-100, 1 carte.
- LECLERCQ J., 1970. - Cartographie des Invertébrés Européens. Directives provisoires. *Natura Mosana*, 23, p. 54-55.
- TAYLOR D.W. et SOHL N.F., 1962. - An outline of Gastropod classification. *Malacologia*, 1, p. 7-32.
- VOKES H.E., 1967. - Genera of the Bivalvia : a systematic and bibliographic catalogue. *Paléont. Res. Inst. Ithaca édit.*, New-York, 394 p.
- ZILCH A. et JAECKEL S. G. A., 1962. - Die Weichtiere (Mollusca) Mitteleuropas, in BROHMER P., EHRMANN P. et ULMER G. - Die Tierwelt Mitteleuropas, 2 (1). *Van Quelle et Meyer édit.*, Leipzig, 294 p., 9 pl., 111 fig.

## LEGENDE DE LA FIGURE

Quadrillage UTM de la France et cotation des secteurs de 100 km de côté (secteurs divisés en 4 sous-secteurs : NW - NE - SW - SE).



## REPARTITION EN FRANCE DE POTAMOPYRGUS JENKINSI

(E.A. Smith, 1889)

par Guy REAL (1)

### RESUME

La répartition géographique en France de *Potamopyrgus jenkinsi*, l'extension de cette espèce et quelques points de sa biologie sont étudiés.

### SUMMARY

Some data on the geographical dispersion in France and on the biology of *Potamopyrgus jenkinsi* are given here.

\* \* \* \*

### I - POSITION SYSTEMATIQUE DE L'ESPECE

Classe : Gastropoda - Sous classe : Steptoneura (= Prosobranchia) - Ordre : Mesogastropoda - Super famille : Rissoacea - Famille : Hydrobiidae - Genre : *Potamopyrgus* Stimpson, 1865 - Sous genre : *Potamopyrgus* s. s.

### II - ICONOGRAPHIE ET SYNONYMIE

*Hydrobia jenkinsi*, Smith, 1889 (description de l'espèce) - *Paludetrina jenkinsi*, Woodward, 1892, fig. A (radula) - *Paludetrina jenkinsi*, Robson, 1920, pl. XV (anatomie interne) - *Hydrobia jenkinsi*, W. Adam, 1960, fig. 19 C, 19 D (coquilles) et 21 (radula) - *Potamopyrgus jenkinsi*, Fretter et Graham, 1962, fig. 186 H (génital) fig. 306 A (tête) et 309 (anato. gén. externe) - *Potamopyrgus jenkinsi*, P. Mars, 1966, pl. I, fig. 33-39 (opercule, coquilles) fig. 14 D et 15 (radula) - Granier, Penez et Prost, 1972, fig. 1 (opercule) et 2 (coquille et animal en vie).

On classe actuellement cette espèce dans le genre *Potamopyrgus*, genre comprenant des Hydrobiidae exotiques ovovivipares et à coquille souvent carénée.

### III - POLYMORPHISME

Le test de *Potamopyrgus jenkinsi* peut présenter trois aspects morphologiques :

- spire dépourvue de toute ornementation : **forme lisse** = variété *ecarinata* (Jenkins, 1889) ;
- spire plus ou moins carénée sur le sommet des tours : **forme carénée** = variété *carinata* (J.T. Marshall, 1889) ;
- spire avec une ligne d'épines plus ou moins développées : **forme spinescence ou denticulée** = variété *aculeata* (Overton, 1905).

(1) Institut universitaire de Biologie marine de Bordeaux I - 2, rue du professeur Jolyet - ARCACHON - 33120.  
Société Française de Malacologie. Commission Faunistique Continentale.

(Ont aimablement collaboré à cet inventaire par l'envoi à l'auteur de spécimens ou de documents : M. le prof. A. Lucas, MM. P. Callias - H. Chevallier - V. Lecomte - G. Olliver)

Actuellement on ne considère pas ces formes comme des variétés ou des sous espèces. L'origine de cette ornementation fait actuellement l'objet de recherches.

#### IV - ECOLOGIE

##### HABITAT

L'espèce est eurytherme, puisqu'elle supporte les conditions offertes par des climats aussi différents que ceux de la Finlande ou de la Corse.

##### A) TYPES DE POINTS D'EAU

*Potomopyrgus jenkinsi* colonise des eaux extrêmement variées, douces ou saumâtres à salinité jusqu'à plus de 15 g./l. en permanence (supportant momentanément, des salinités de plus de 25 g./l.). Les populations les plus denses s'observent dans des eaux stagnantes ou à courant très faible, douces ou légèrement saumâtres (salinité de l'ordre de 5‰) mais on les trouve également dans des endroits à forts courants ainsi que dans les zones d'estuaires soumises à l'influence des marées et donc sujettes à des émergences prolongées.

##### B) TYPES DE SUBSTRAT ET DE SUPPORT

*Potomopyrgus jenkinsi* se trouve indifféremment sur des substrats les plus variés :

station : vaseuse, sableuse, caillouteuse

support : plantes vivantes, débris végétaux, lit de feuilles mortes, débris de bois et même maçonneries.

L'espèce s'accommode de fonds aussi bien d'origine granitique (Finistère) que d'origine calcaire (Flandres).

##### NOURRITURE

*Potomopyrgus jenkinsi* est un détritivore qui ne broutant pas les feuilles vertes ne porte pas préjudice à la flore. Il leur préfère les matières mortes en décomposition.

##### DENSITE

*Potomopyrgus jenkinsi* peut être extrêmement dense, les chiffres indiqués par les auteurs, bien que variables le démontrent :

Adam	(1942)	30 000	individus	au	m <sup>2</sup>	sur	le	sol	en	eau	douce
Doby & Coll.	(1965)	15 000	"	"	"	"	"	"	"	"	"
Lucas	(1959)	800 000	"	"	"	"	"	"	"	"	"

estimation en tenant compte de la colonne d'eau et en comptant les jeunes de tout âge.

Réal (1970) 40 000 individus au m<sup>2</sup> sur le sol en eau saumâtre (densité exceptionnelle et très localisée).

#### V - CYCLE BIOLOGIQUE

L'espèce est ovovivipare et parthénogénétique. Le cycle biologique est encore imparfaitement connu. La ponte chez des populations considérée dans leur ensemble est continue : l'abondance de la ponte croît de janvier à mars, puis elle décroît de septembre à décembre. La période de plus grande activité se situe entre avril et août. En élevage il semble qu'il y ait peu de mortalité chez les jeunes, ce qui favorise sa pullulation en certains endroits. La maturité paraît se situer vers le 5ème mois. La fécondité est variable selon les stations : dans le cas de certaines populations la fécondité annuelle ramenée à un seul individu approche les 200 jeunes, dans d'autres ce chiffre s'abaisse à 80 (dans le sud-ouest de la France moyenne calculée sur 4 années).

#### VI - DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE

La distribution actuelle en France est figurée fig. 1. Certaines zones du littoral Atlantique ; par exemple, le Finistère, l'ouest des côtes du Nord, le bassin d'Arcachon sont des régions où de très nombreuses stations ont été notées : mais soit leur proximité empêche de les situer à l'échelle employée sur la carte soit les auteurs n'ont pas suffisamment précisé les lieux-dits. On peut considérer que l'espèce est fréquente sur une grande partie du littoral de la côte Atlantique.

La prospection approfondie de la frange maritime d'une part, des régions continentales d'autre part permettra dans l'avenir de vérifier si l'extension de l'espèce continue sur le même rythme en souhaitant qu'il soit tenu compte des trois aspects morphologiques de l'espèce précédemment définis.

L'Angleterre paraît avoir été à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle le pays de diffusion de cette espèce. Son extension rapide en Europe est résumée chronologiquement fig. 2. Les cartes montrent que l'espèce s'installa initialement dans une frange maritime qui semble correspondre à son aire de prédilection.

Malgré des nombreuses recherches, l'origine de *Potamopyrgus jenkinsi* demeure encore incertaine. Actuellement la plupart des auteurs admettent son origine exotique. Un récent travail approfondi de Winterbourn (1970) reprend cette thèse et conclue à la similitude morphologique et biologique de *Potamopyrgus jenkinsi* (espèce européenne) avec *Potamopyrgus antipodarum* (Gray) (espèce de Nouvelle Zélande). Cependant, étant donné qu'il reste beaucoup à faire en ce qui concerne la systématique des *Potamopyrgus* et *Hydrobia* exotiques, je pense qu'il est encore trop tôt pour mettre ces deux espèces en synonymie.

\* \* \* \*

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADAM W., 1942. - Notes sur les gastéropodes, XI. Sur la répartition et la biologie de *Hydrobia jenkinsi* Smith en Belgique. *Bull. Mus. Roy. Hist. Nat. Belgique*, 18, 23.
- ADAM W., 1960. - Faune de Belgique. Mollusques, T. I : Mollusques terrestres et dulcicoles, *Patr. Inst. Roy. Sci. Nat. Belgique* éditeur 402 p., 4 pl.
- BERNER L., 1963. - Sur l'invasion de la France par *Potamopyrgus jenkinsi* (Smith). *Archiv. Mollusk.*, 92, p. 19-29.
- BOETTGER C.R., 1954. - La distribution actuelle de *Potamopyrgus jenkinsi* (E.A. Smith) en France. *J. Conch. Lond.*, XCIV, p. 31-38.
- BONDESEN P. et KAISER E.W., 1950. - *Hydrobia (Potamopyrgus) jenkinsi* Smith in Denmark illustrated by its ecology. *Oikos*, I, (2), p. 252-281.
- DOBY J. M., CHABAUD A., MANDAHN-BARTH G., RAULT B., et CHEVALLIER H., 1966. - Extension en Corse du mollusque gastropode *Potamopyrgus jenkinsi* (Smith, 1889) (Hydrobiidae) *Bull. Mus. Nat. Hist. Nat.*, Paris, 2<sup>ème</sup> série, 37, 5, p. 833-843.
- FRETTER V., et GRAHAM A., 1962. - British Prosobranch Molluscs. Their functional anatomy and ecology. *Ray Society* édit., London 755 p., 316 fig.
- HUSSON R. et PAGES J., 1963-1964. - Présence du gastéropode Prosebranche *Potamopyrgus jenkinsi* (Smith) en Côte-d'Or, *Bull. Sci. Bourgogne*. XXII, p. 65-67.
- GRANIER J., PENEZ A., PROST M., 1972. - Nouvelles stations à *Potamopyrgus jenkinsi* (Smith) dans la banlieue d'Avignon. *Bull. Soc. linn.*, Lyon 41<sup>ème</sup> année, 2, p. 28-32.
- LUCAS A., 1959. - Les Palustrines, envahisseurs énigmatiques. *Penn Bed*, n° 16 (1<sup>ère</sup> partie) p. 17-21.
- LUCAS A., 1965. - Nouvelles données sur la distribution en France d'*Hydrobia jenkinsi* (E.A. Smith) (Hydrobiidae, Gastropodes) *J. de Conch.* Paris, CV, p. 40-48.
- LUCAS A., 1971. - Mollusques Gastropodes dulcicoles de Basse-Bretagne. *Bull. Soc. Sci.*, Bretagne XLVI, 3-4, p. 229-236.
- MARS P., 1966. - Recherches sur quelques étangs du littoral méditerranéen français et sur leurs faunes malacologiques. *Vie et Milieu*, suppl. n° 20., 359 p., 6 pl.

- MICHAUT P., 1967. - Données sur un gastéropode Prosobranchier récemment introduit en Côte-d'Or, *Potamopyrgus jenkinsi*, *Hydrobiologica* 32, (3-4), p. 513-527.
- REAL G., 1970. - Variations morphologiques du test, écologie, cycle de la reproduction et biométrie d'un gastéropode récent pour l'Europe *Potamopyrgus jenkinsi* (E.S. Smith, 1889) Mémoire E. P. H. E. ronéotypé, 142 p.
- REAL G., 1971. - Ecologie et cycle de la ponte dans la région d'Arcachon (Gironde) de *Potamopyrgus jenkinsi* (Smith, 1889) Gastéropode Hydrobiidae. *Malacologia* 1, n° 1, p. 49-50.
- REAL G., (sous presse). - Polymorphisme du test de *Potamopyrgus jenkinsi* (E.A. Smith, 1889) en milieu saumâtre ou lacustre. *Malacologia*,...
- ROBSON G.C., 1920. - On the anatomy of *Paludetrina jenkinsi*. *Ann. Mag. Nat. Hist.*, sér. 9, V, p. 425-431.
- SMITH E. A., 1889. - Notes on British Hydrobiae with a description of a supposed new species. *J. of Conch. Lond.* 6, p. 142-145.
- WINTERBOURN M., 1970. - The new Zealand species of *Potamopyrgus* (Gastropoda : Hydrobiidae). *Malacologia*, 10, (2), p. 283-321.
- WOODWARD B. B., 1892. - On the radula of *Paludetrina jenkinsi* Smith and that of *Paludetrina ventrosa* Montagu. *Ann. Mag. Nat. Hist.*, (6), IX, p. 376-378.

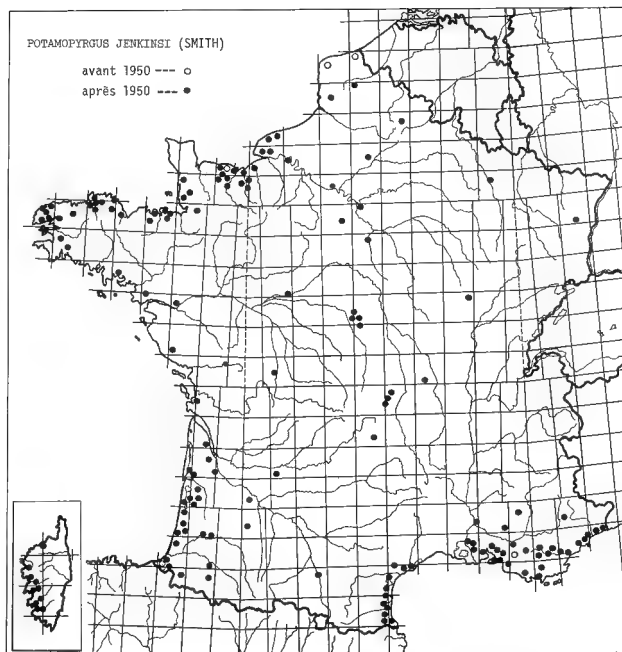
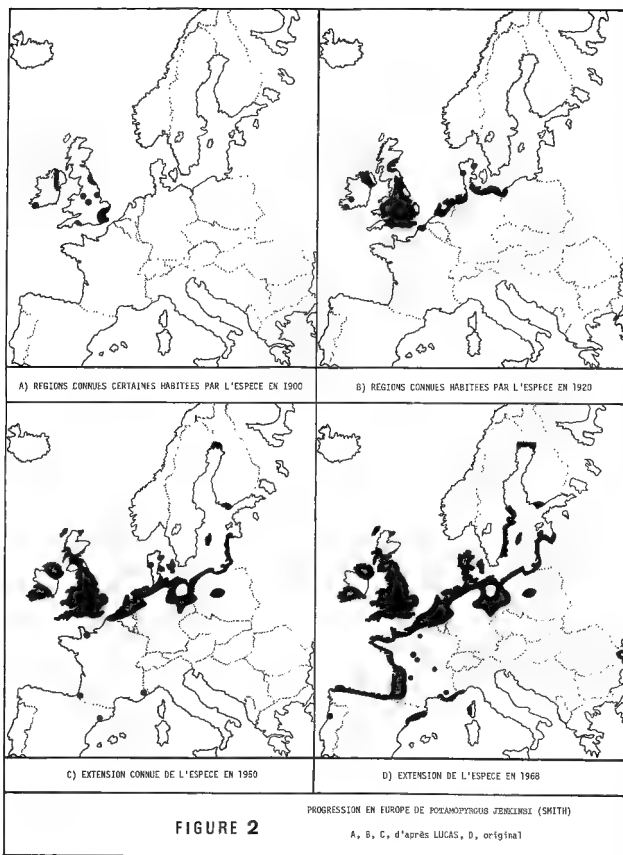


Figure 1

REPARTITION EN FRANCE DE POTAMOPYRGUS JENKINSI (SMITH)

CARTE ETABLIE EN DECEMBRE 1972



## REPARTITION EN FRANCE DE *DEROCERAS CARUANA* (POLLONERA, 1891)

par H. CHEVALLIER (1)

### RÉSUMÉ

La position systématique, la répartition géographique, la biologie et l'écologie de cette espèce sont étudiées.

### SUMMARY

Taxonomic data, geographical dispersion, biology and ecology of *Deroceras caruanae* are described here.

\* \* \* \*

### I - POSITION SYSTEMATIQUE DE L'ESPECE

Classe : Gastropoda - Sous-classe : Euthyneura - Infra-classe : Pulmonata - Ordre : Stylommatophora - Sous-ordre : Sigmurethra - Super-famille : Zonitacea - Famille : Limacidae - Sous-famille : Deroceratinae - Genre - *Deroceras* Rafinesque, 1820 - *Agriolimax* Mürch, 1865.

### II - ICONOGRAPHIE ET SYNONYMIE

*Agriolimax caruanae*, Pollonera, 1891 : fig. 2 (génitalia) - *Deroceras caruanae*, Hemeury, 1958 : fig. 2-4 (anatomie génitale) - *Agriolimax caruanae*, Quick, 1960 : fig. 10 C, 10 E, 10 H, 12 (anatomie), 10 K (préludes d'accoupl.), pl. 2, fig. 17 (animal) - *Deroceras meridionale*, Reygrobellet, 1963 a : anatomie et polymorphisme du génitalia - *Deroceras caruanae*, Chevallier, 1970 : fig. 21 (génitalia et animal).

### III - POLYCHROMISME

Je distingue en France 4 variétés de coloration de l'animal que je nomme :

var. *typica* : corps grisâtre, maculé de petits points plus ou moins épars ;

var. *pallida* : corps blanc-jaunâtre sans maculations ;

var. *maculata* : maculations brunâtres prononcées ;

var. *grisea* : coloration du corps gris foncé.

(1) Muséum national d'Histoire naturelle, Laboratoire de Biologie des Invertébrés marins et Malacologie, 55 rue Buffon, Paris 5e. - Commission Faunistique Continentale de la S.F.M., avec l'aimable collaboration de : M. le Prof. A. Maury, Mme Fredj-Reygrobellet, MM. B. Métivier et Ph. Bouchet.

#### IV - ECOLOGIE

Biotores humides, herbacés, rudéraux ou semi-marécageux. Très souvent à proximité de point d'eau (eaux douces, saumâtres ou salées). C'est un des Mollusques terrestres qui s'approche le plus près des rivages maritimes (talus littoraux humides, bords de lagunes, près salés, estuaires). Se rencontre parfois dans les jardins.

#### V - CYCLE BIOLOGIQUE

Le cycle reproducteur paraît être de type continu comme celui de *Deroceras reticulatum* (Müller). Un accouplement a été constaté dans la nature en juin, mais des œufs à différents mois de l'année. En élevage l'espèce se reproduit par auto-fécondation (Maury et Reygrobellet, 1963). Reygrobellet (1963 b) indique que la croissance de son *D. meridionale* (= *caruanae*) est plus rapide que celle de *D. reticulatum* : phase juvénile de 3 à 4 semaines, phase de maturité de 2 à 3 mois, ponte au début de la phase de maturité. La croissance est optimale à 20° C.

#### VI - DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE

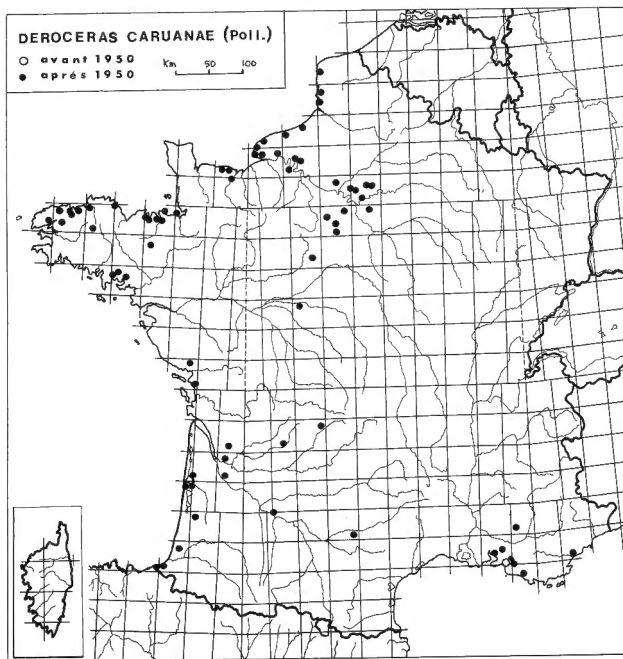
Malte (localité-type), Sicile, Sud de l'Italie, Canaries, Grande-Bretagne, Irlande et France. Introduite en Californie, Afrique du Sud, Zélande (Pays-Bas), Danemark et Suède. Le problème est de savoir si cette espèce est d'origine indigène dans les Îles Britanniques et en France. Hayward (1954) rapporte à cette espèce des limacelles fossiles trouvées dans un gisement Holocène au nord de Londres. *D. caruanae*, reconnue assez récemment en France (Marseille : 1948 - Bretagne : 1958), était peut être, jusqu'alors, confondue avec les variétés de *Agriolimax agrestis* act. (= *D. reticulatum*). Les bordures maritimes de la France correspondent à son aire de prédilection, les stations de l'intérieur probablement à des introductions (région parisienne, Loches, Périgueux, Tulle, Alban). Quick l'a indiqué aussi dans les Pyrénées Orientales (sans préciser la localité).

\* \* \* \*

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALTENA C.O. van R., 1962. - Notes sur les Limaces 6. A propos des limaces de l'île de Malte. *Basteria*, Leyde, 26 (3-4), p. 47-53.
- CHEVALLIER H., 1970. - Les Limaces de Bretagne. *Penn ar Bed*, Brest, 7 (62), p. 370-389.
- HAMEURY M.-P., 1958. - Sur la présence en France de *Deroceras caruanae* (Pollonera 1891) : Vie et Milieu, Paris, 9 (1), p. 81-87.
- HAYWARD J. F., 1954. - *Agriolimax caruanae* Pollonera as a Holocene fossil, *J. of Conch.*, Londres, 23 (12), p. 403-404, pl. 15.
- MAURY M.-F. et REYGRBELLET D., 1963. - Sur les distinctions spécifiques chez les Mollusques Limacides du genre *Deroceras*. *C.R. Acad. Sci.*, Paris, 257 (groupe 12), p. 276-277.
- POLLONERA C., 1891. - Appunti di Malacologia. VII. - Intorno ai Limacidi di Malta. *Boll. Mus. Zool.* Torino, Turin, 6 (99), p. 1-4.
- QUICK H. E., 1960. - British Slugs (Pulmonata; Testacellidae, Arionidae, Limacidae). *Bull. Br. Mus. (Nat. Hist.) Zool.*, Londres, 6 (3), p. 103-226, 2 pl.
- REYGRBELLET D., 1963 a. - Une nouvelle espèce de Limacide *Deroceras meridion* n. sp. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, Paris, 88, p. 399-402.
- REYGRBELLET D., 1963 b. - Recherches biologiques et écologiques sur les Mollusques Limacides du genre *Deroceras* en Provence. Thèse dactylographiée, Marseille, 52 p., 9 p. biblio. 17 pl.





#### LEGENDE DE LA CARTE

Répartition en France de *Deroeras caruanae* (Pollonero, 1891) - Carte dressée en 1972 (L'Est de la France n'a pas été prospecté - pas de données précises pour les Pyrénées-Orientales).



## DIRECTIVES GENERALES POUR LA REDACTION DES MANUSCRITS EDITES DANS LA REVUE «HALIOTIS»

### I - PREPARATION DES TEXTES

*Haliotis* a un format 21 x 29,7 cm. La composition est faite en une colonne par double frappe d'une machine ayant la possibilité de justification (IBM par exemple). Justification du texte : 150 x 230 mm.

*Haliotis* comprend : des figures au trait, des photographies en simili gravure placées dans le texte, des planches photographiques hors texte en simili gravure ou autres procédés au format de 160 x 230 mm.

#### 1) Dactylographie du manuscrit

La dactylographie du manuscrit a une grande importance car sa bonne exécution facilite la composition et évite l'introduction de «coquilles».

Il est recommandé aux auteurs d'*Haliotis* :

- de bien vouloir dactylographier la copie de façon uniforme ;
- d'espacer les lignes d'au moins deux interlignes ;
- de ne s'écarter aucun titre en majuscule ;
- de ne rien souligner dans le texte, exception faite pour le cas où l'auteur désire mettre en évidence une ligne ou une portion de ligne et pour les noms devant venir en italique ;
- de dactylographier les notes infrapaginales en paragraphes (la première ligne seule est renforcée) ;
- de dactylographier les légendes de figures et les références bibliographiques en sommaire, c'est-à-dire la première à la ligne marge, les suivantes renforcées de quatre espaces...

Exemples :

Fig.3 : Schéma explicatif de l'hypothèse de la constitution des gargates. Sous l'action hydrodynamique, le sable incorporé à la gravelle originelle s'est rassemblé en accumulations dunaire...

SALVAT B., 1971. - Mollusques lagunaires et récificomes de l'île de Raevavae (Australes, Polynésie). *Malacological review*, (29 p. dactyl. sous presse).

- de numéroté les paragraphes avec une graphie simple (un point, un espace) ; I., 1., a., ; éviter les graphies telles que 1.-, 1), 1°, 1 :.

#### 2) Correction des épreuves

Les auteurs d'*Haliotis* recevront une seule épreuve pour correction. Il s'agit d'une épreuve sur «cadré» dans laquelle ils signaleront les erreurs.

Les corrections d'auteurs - celles qui modifient la copie - seront facturées aux auteurs.

### II - REDACTION DES TEXTES

#### 1) Auteurs

Le nom d'auteur, lié au titre, sera accompagné du prénom en toutes lettres. Une note infrapaginale précisera son attaché professionnelle et son adresse.

Exemple : Jean-Claude FISCHER (\*).

(\*) Institut de Paléontologie, Muséum national d'Histoire naturelle, 8 rue Buffon, 75 - Paris Ve (en note infra paginale). Dans le texte, les auteurs sont signalés par leur nom et éventuellement l'initiale de leur prénom, écrit en romain (et non en capitales), que ce soit une citation ou l'appel à une référence bibliographique.

Les seuls noms d'auteurs écrits en capitales sont ceux qui suivent la citation d'une espèce.

Exemple : ... l'espèce *Hygromia cinctella* (Draparnaud, 1801), citée par L. Germain (1930, p.258) ...

#### 2) Résumés

Tous les articles présentés dans *Haliotis* doivent être précédés d'un résumé rédigé dans la langue originelle de l'article. Sa traduction en anglais est obligatoire.

Il doit être nécessairement un résumé de résultats et non un résumé d'objet ou de contenu.

#### 3) Références bibliographiques

Il est préférable de nommer «références bibliographiques» la liste des ouvrages cités dans le texte plutôt que «bibliographie», terme impropre.

Les publications seront classées par ordre alphabétique et non par ordre chronologique ou par ordre d'appel dans le texte (dans le style employé par les comptes-rendus de l'Académie des Sciences).

Chaque référence bibliographique comportera la succession suivante :

- le nom de l'auteur en capitale, suivi de l'initiale de son prénom et d'une virgule ;
- l'année suivie d'un point-croché ;
- le titre complet de l'ouvrage, en romain suivi d'un point ;
- le titre de la revue, abrégé suivant les règles du code d'abréviation des périodiques (AFNOR, NF-Z 44 ; ISO, R-4, 1953) , ou bien celui de l'éditeur, en italique, suivi de édit., en italique et de la ville d'édition ;
- la série, le tome, le volume, etc... suivis d'une virgule ;
- les pages ;
- les illustrations diverses.

Exemples :

MENOT J.C. et RAT P., 1967. - Sur la structure du complexe récifal jurassique de la vallée de l'Yonne. *C.R. Acad. Sci.*, Paris, sér. D, 264 (23) : 2620-2623, 1 fig.

TERMIER H. et TERMIER G., 1952. - Histoire géologique de la biosphère. *Masson édit.*, Paris, 721 p., 36 cartes, 8 lith., 117 fig.

#### 4) Index et tables

Toute publication (en dehors des notes courtes) sera accompagnée d'un sommaire.

Désormais, le sommaire sera placé en début de texte, avant le résumé.

La table des illustrations ne devient nécessaire que si les illustrations sont suffisamment nombreuses.

### III - FIGURES DANS LE TEXTE

Les dessins et cartes doivent être faits sur bristol blanc ou calque à l'encre de chine. Ils doivent être prévus pour une réduction finale de 1/2 au maximum (la hauteur des lettres et des chiffres ne devra pas être inférieure à 1,5 mm après réduction). Les photographies seront le plus nettes possible, sur papier brillant, et normalement contrastées. L'emplacement des figures sera indiqué dans la marge du manuscrit.

### IV - PUBLICATION

Les textes non conformes à ces prescriptions seront retournés aux auteurs. L'acceptation définitive des manuscrits se fait après avis du Comité de lecture. Il pourra être demandé aux auteurs une contribution financière pour les planches importantes (photos) dont la reproduction est très coûteuse.

27 MAI 1974

H M

1